This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

W7765c

Digitized by Google

3 2044 106 415 987

W7765c

W. G. FARLOW.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

АРХИВЪ
БІОЛОГИЧЕСКИХЪ НАУКЪ

ИЗДАВАЕМЫЙ

ИМПЕРАТОРСКИМЪ ИНСТИТУТОМЪ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ

ВЪ С.-ПЕТЕРБУРГѢ.

Томъ I. Выпускъ 1-й и 2-й.

ARCHIVES
DE SCIENCES BIOLOGIQUES

PUBLIÉES PAR

L'INSTITUT IMPÉRIAL

DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

A ST.-PÉTERSBOURG.

Tome I. № 1 et 2.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.
1892.

W. G. FARLOW.

Digitized by Google

W7765c

ОГЛАВЛЕНІЕ. — SOMMAIRE.

	стр.		pag.
Императорскій Институтъ Экспериментальной Медицины. А. П. Саломона	2	L'Institut Impérial de Médecine Expérimentale à Saint-Pétersbourg. Par M. Al. Salomon	3
Химическія изслѣдованія надъ микробами, вызывающими воспаленіе молочныхъ железъ у коровъ и козъ. М. В. Ненцкаго	24	Recherches chimiques sur les microbes produisant l'inflammation des glandes mammaires des vaches et des chèvres laitières. Par M. Nencki	25
О вліяніи карбоксиловой группы на токсическое дѣйствіе ароматическихъ соединеній. М. В. Ненцкаго и Г. Бутми	60	L'influence du groupe Carboxyle sur les effets toxiques des combinaisons aromatiques. Par MM. Nencki et Boutmy	61
Къ морфологіи организмовъ процесса образованія селитры въ почвѣ. С. Н. Виноградскаго	86	Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification. Par M. Winogradsky	87
О свойствахъ туберкулина, полученнаго изъ туберкулезныхъ бациллъ, выращенныхъ на картофелѣ. Х. И Гельмана	138	Des propriétés de la tuberculine provenant de bacilles tuberculeux cultivés sur pomme de terre. Par M. Helman	139
Статистическія свѣдѣнія за пять лѣтъ объ укушенныхъ бѣшеными животными и лѣченныхъ по способу Пастера въ С.-Петербургѣ. В. А. Краюшкина	152	Statistique des personnes mordues par des animaux enragés et traitées d'après la méthode Pasteur à Saint-Pétersbourg. Par M. Kraïouchkine	153
Изслѣдованія надъ измѣненіями питательныхъ средъ подъ вліяніемъ бациллъ дифтерита и химическій анализъ этихъ бактерій. С. К. Дзержговскаго и Л. Рековскаго	166	Recherches sur la transformation des milieux nutritifs par les bacilles de la diphtérie et sur la composition chimique de ces microbes. Par MM. Dzierzgowski et de Rekowski	167
Матеріалы для біологіи бацилла тифа. Г. Блахштейна	198	Contribution à la biologie du bacille typhique. Par M. Blachstein	199
Туберкулинъ, его приготовленіе и дѣйствіе на организмъ животныхъ, зараженныхъ туберкулезомъ. О. Буйвида	212	La tuberculine, sa préparation, ses effets sur l'organisme des animaux atteints de la tuberculose. Par M. Bujwid	213
Критическое обозрѣніе методовъ опредѣленія соляной кислоты въ содержимомъ желудка. А. Мизерскаго и Л. Ненцкаго	234	Revue critique des procédés employés pour le dosage de l'acide chlorhydrique du suc gastrique. Par MM. Mizerski et L. Nencki	235
† Х. И. Гельманъ. Некрологъ	258	† C. I. Helman	259

Напечатано по распоряженію Императорскаго Института Экспериментальной Медицины.

ТИПОГРАФІЯ ИМПЕРАТОРСКОЙ АКАДЕМІИ НАУКЪ.
Вас. Остр., 9 линія, № 12.

Digitized by Google

Contributions à la morphologie des organismes de la nitrification.

Par M. S. Winogradsky.

(Avec les planches I—IV.)

Le présent mémoire est la suite de mes recherches sur les organismes de la nitrification, publiées dans les *Annales de l'Institut Pasteur* des deux dernières années [1]). Ces mémoires antérieurs ne s'occupant presqu'exclusivement que du côté chimique et physiologique du processus, la morphologie des microbes actifs n'y était traitée qu'en passant et en peu de mots. Il me parait non dépourvu d'intérêt de compléter, à ce point de vue, les notions déjà acquises sur un phénomène naturel de l'importance de la nitrification.

Et puis, il me semble qu'une étude approfondie d'une espèce bactérienne intéressante, de son développement surtout, est toujours utile à faire, d'autant plus qu'on n'en fait pas beaucoup aujourd'hui. En fait de morphologie, on se borne le plus souvent à comparer l'aspect des cultures sur quelques terrains de culture, toujours les mêmes, en y cherchant des moyens de diagnose. Mais, plus la liste des bactéries connues devient longue, plus il devient difficile de les distinguer, en se servant de quelques caractères nécessairement très-uniformes. Il me paraît qu'une étude botanique complète de telle ou telle forme pourra, dans plusieurs cas, mener au but. Les êtres les plus simples, si on s'impose de les étudier de plus près et de suivre surtout leur croissance, finissent par montrer certains traits qui, combinés l'un à l'autre, donnent un ensemble assez typique.

---

1) T. IV, №№ 4, 5, 12. T. V, №№ 2, 9.

Digitized by Google

нѣсколькихъ примѣровъ, взятыхъ изъ маленькой флоры нитрифицирующихъ организмовъ почвы.

I.

Въ теченіе послѣднихъ двухъ лѣтъ много занимались вопросомъ о нитрификаціи, и вышедшія работы — гг. Франкландъ, г. Варингтона и мои — вполнѣ согласны въ самыхъ существенныхъ своихъ результатахъ. Но что касается морфологіи, эти работы не дали болѣе очень краткихъ описаній дѣйствующихъ организмовъ, и вдобавокъ эти неполныя данныя въ значительной степени противорѣчивы; настолько, что читатель, ознакомившійся съ этими работами, рѣшительно не былъ бы въ состояніи составить себѣ объ этихъ микробахъ сколько нибудь яснаго понятія.

Первый нитрифицирующій микробъ, съ которымъ я познакомился, былъ нитрозный микробъ, извлеченный мною изъ цюрихской земли. Какъ помнятъ[1]), культура его удавалась только въ растворѣ неорганическихъ солей; я употреблялъ растворъ сѣрно-кислаго аммонія (содержащій въ растворѣ въ ничтожномъ количествѣ и другія нужныя минеральныя вещества), къ которому прибавлялось немного основной углекислой магнезіи. Я описалъ внѣшній видъ этихъ культуръ и то, что въ нихъ открываетъ микроскопъ. Единственный внѣшній признакъ этихъ культуръ, говорилъ я, заключается въ томъ своеобразномъ студенисто-хлопьеватомъ видѣ, который принимаетъ осадокъ магнезіи на высотѣ процесса. Слой жидкости надъ этимъ осадкомъ обыкновенно прозраченъ и не показываетъ на поверхности никакихъ слѣдовъ пленки; только по временамъ является вдругъ слабая характерная опалесценція или даже ясная муть. Микроскопъ открываетъ тогда въ жидкости подвижнаго овальнаго или эллипсоидальнаго микроба. Тотъ же организмъ находится всегда въ большомъ количествѣ на днѣ колбъ, покрывая частицы магнезіи, въ особенности въ нитрифицированныхъ уже культурахъ. Тамъ клѣтки его лежатъ въ рыхлыхъ группахъ, повидимому связанныхъ, но слабо, студенистымъ веществомъ, образуя родъ безформенныхъ зооглей. Размѣры клѣтокъ слѣдующіе: отъ 0,9 до 1 μ — короткій діаметръ, и отъ 1,2 до 1,8 μ — длинный; послѣдней длины клѣтки имѣютъ уже перетяжку, предшествующую дѣленію.

Итакъ, я уже указалъ тогда на два состоянія, свойственныя микробу: свободныя, подвижныя клѣтки и неподвижныя группы, образующія родъ зооглей. Но я не зналъ еще его настоящихъ, характерныхъ зооглей, которыхъ я открылъ нѣсколько позже, слѣдя за его развитіемъ въ той же жидкой средѣ.

1) *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1890. № 5.

Digitized by Google

Un des buts de ce mémoire est de prouver cette opinion, par quelques exemples tirés de la florule des microbes nitrificateurs du sol.

I.

Dans le cours des deux dernières années, on a beaucoup étudié la nitrification, et les travaux parus — ceux de M. et M-me Frankland, M. Warington et les miens — sont d'accord dans leurs résultats les plus essentiels. Mais quant à la morphologie, on ne trouve que de courtes descriptions des organismes actifs, et encore celles-ci se contredisent sur plusieurs points; de sorte que le lecteur, ayant parcouru ces travaux, trouverait difficilement à se faire une idée assez claire des microbes en question.

Le premier microbe nitrifiant que j'ai connu, était un ferment nitreux, que j'ai isolé de la terre de Zurich. Je n'ai réussi à le cultiver, comme on se le rappelle, que dans une solution minérale; j'employais une solution de sulfate d'ammoniaque, contenant les autres sels inorganiques nécessaires, additionnée de carbonate de magnésie. J'ai décrit, dans mon second mémoire, l'aspect de ces cultures et ce qu'y révèle le microscope[1]). Le seul signe extérieur d'une culture, ai-je dit, c'est le caractère floconneux ou gélatineux, du dépôt de carbonate au fond des vases, en pleine nitrification. Le liquide surnageant étant ordinairement limpide et libre de tout voile ou membrane à la surface, on le voit, par période, montrer une opalescence ou un trouble caractéristique. Le microscope découvre alors dans le liquide un microbe mobile de forme ovale ou ellipsoïde. Le même organisme se trouve toujours en grande quantité au fond des vases, couvrant les particules du carbonate, surtout dans les liquides déjà nitrifiés. Ses cellules paraissent alors retenues en groupes épars par une matière gélatineuse de faible consistance. Leurs dimensions étaient de 0.9 à 1 μ — le petit diamètre — et de 1.2 à 1.8 μ le grand; celles qui montraient la dernière longueur avaient déjà l'étranglement précédant la division.

Ainsi, j'avais déjà signalé ces deux états: cellules libres mobiles, et groupes immobiles, formant une sorte de zooglée, qui sont propres au microbe; mais je ne connaissais pas encore ses vraies zooglées caractéristiques, que j'ai découvertes bientôt après, en suivant le développement de l'organisme dans le même milieu liquide.

---

1) *Ann. de l'Inst. Pasteur.* 1890. № 5.

Digitized by Google

Пока идетъ рѣчь о культурахъ нитрифицирующаго микроба въ минеральныхъ растворахъ, описаніе, которое даютъ гг. Франкландъ[1]), мало отличается отъ моего: овальныя клѣточки, свободныя, или парами, или группами. Подвижныхъ клѣтокъ упомянутые авторы не наблюдали.

Но гг. Франкландъ сообщаютъ далѣе, что имъ удалось культивировать микроба въ обыкновенномъ щелочномъ бульонѣ и желатинѣ и что этимъ путемъ имъ удавалось вызывать внезапныя измѣненія въ его формѣ. Бульонъ, засѣянный чистой культурой микроба въ минеральномъ растворѣ, измѣнялся очень медленно. Только черезъ 20 дней (при обыкновенной температурѣ) онъ мутнѣлъ, на поверхности его появлялась пленка, а на днѣ студенистый осадокъ. Подъ микроскопомъ этотъ ростъ оказался состоящимъ изъ тонкихъ (0,5 μ) и длинныхъ (отъ 1,5 до 1,7 μ) палочекъ. При посѣвѣ этихъ послѣднихъ на желатинѣ, выростали маленькіе бациллы, которые, будучи болѣе короткими и соединенными попарно, являлись какъ бы промежуточными формами между бациллами бульонныхъ культуръ и минеральныхъ растворовъ.

Г. Варингтонъ[2]) также культивировалъ этотъ нитрозный организмъ въ различныхъ питательныхъ средахъ: въ растворахъ минеральныхъ солей, въ бульонѣ обыкновенномъ и очень разведенномъ водою, въ молокѣ и въ мочѣ, тоже очень разбавленныхъ, въ растворахъ мочевины, аспарагина и т. д.

По г. Варингтону, микробъ является въ двухъ формахъ: первая изъ нихъ представляетъ почти сферическія тѣльца, величиною отъ неизмѣримо маленькой точки до 1,0 μ. въ діаметрѣ[3]). Эту форму можно найти во всѣхъ культурахъ; въ молокѣ и бульонѣ она единственная. Вторая форма, говоритъ г. Варингтонъ, это та, которую обыкновенно описываютъ какъ нитрифицирующій организмъ: овальныя клѣточки болѣе 1 μ. въ длину. Онѣ преобладаютъ въ амміачныхъ растворахъ.

Мнѣ не совсѣмъ ясно, что̀ такое эта «первая форма» г. Варингтона, потому что описаніе ея не примѣнимо къ микроскопической картинѣ чистой культуры какого бы то ни было микрококка[4]).

Что касается до культуры въ обыкновенномъ бульонѣ, то г. Варинг-

---

1) The nitrifying process and its specific ferment. *Phil. Trans.* Vol. 181. 1890.

2) On nitrification, Part IV. *J. chem. soc.* 1891.

3) Привожу подлинную цитату: «the first form... consists of nearly spherical corpuscles, varying in size from mere points up to a diameter of 1,0 μ, which extreme limit is however, rarely reached. This form is very striking, as it take the stain deeply and the extreme difference in size forms a remarkable picture» (l. c., p. 508).

4) На двухъ фотограммахъ, приложенныхъ къ статьѣ, и изображающихъ нитрозный организмъ въ бульонѣ и молокѣ, видны только маленькія точки, не напоминающія никакого микроба.

Digitized by Google

La description que MM. Frankland[1]) donnent de leur microbe nitrifiant ne diffère que peu de celle que je viens de citer, en tant qu'il s'agit de la culture en solutions minérales: cellules oblongues, 0.8 μ de diamètre, libres, en paires ou en petits groupes. Les auteurs ne les ont pas vus à l'état mobile.

Mais MM. Frankland disent avoir réussi à cultiver le microbe dans le bouillon alcalin ordinaire et dans la gélatine, et avoir provoqué, de cette manière, des variations brusques dans ses formes. Le bouillon, ensemencé par une culture pure du microbe en solution minérale, est très-lent à s'altérer; ce n'est qu'au bout de vingt jours (à la température ordinaire) qu'on le voit se troubler, former une membrane à la surface, et un dépôt gélatineux au fond. Examinées au microscope, ces végétations apparaissaient comme formées de batonnets minces (0,5 μ) et longs (1,5 à 5,7 μ). Quand on ensemençait ces derniers sur la gélatine, des petits bacilles y poussaient, qui, étant plus courts et réunis en paires, avaient une apparence intermédiaire entre les bacilles du bouillon et ceux des solutions minérales.

M. Warington[2]) a également cultivé le même ferment nitreux sur divers milieux: des solutions de sels minéraux, la gélatine, le bouillon ordinaire et très-étendu d'eau, le lait, l'urine, très-dilués aussi, des solutions d'asparagine et d'urée. Selon ce savant, le microbe y apparait sous deux formes: la première des deux présente des corpuscules à peu près sphériques, variant dans leur taille, depuis un simple petit point jusqu'à un diamètre de 1.0 μ[3]). Cette forme se retrouve dans toutes les cultures; elle est la seule dans le lait et le bouillon. La seconde forme est celle, dit M. Warington, qu'on décrit généralement comme l'organisme nitrifiant: cellules ovales d'une longueur excédant 1 μ. Elles prédominent dans les solutions ammoniacales.

Il ne m'est pas clair, ce que c'est que cette «première forme» de M. Warington; la description qu'il en donne n'étant pas applicable à l'aspect microscopique d'une culture pure d'un micrococque quelconque[4]).

---

1) The nitrifying process and its specific ferment. *Phil. Trans.* Vol. 181, 1890.

2) On Nitrification, Part. IV. *A report of experiments made in the Rothamsted Laboratory.* 1891.

3) Je cite textuellement: «the first form. . . . consists of nearly spherical corpuscles, varying in size from mere points up to a diameter of 1,0 μ. which extreme limit is, however, rarely reached. This form is very striking, as it take the stain deeply and the extreme difference in size forms a remarkable picture» (l. c., p. 508).

4) Sur les deux photogrammes adjoints au mémoire qui représentent l'organisme nitreux dans le bouillon et le lait, on ne voit que des petits points, qui ne me font pas l'effet d'aucun microbe.

Digitized by Google

тонъ говоритъ, что онъ не можетъ подтвердить наблюденій гг. Франкландъ. Онъ сдѣлалъ 24 опыта и ни разу не видѣлъ, чтобы бульонъ помутнѣлъ, сдѣлался тягучимъ и далъ осадокъ. Жидкость оставалась чистой и въ ней не появлялось никакого роста, видимаго простымъ глазомъ. Точно также г. Варингтонъ никогда не находилъ тѣхъ бациллъ и тонкихъ нитей, о которыхъ говорятъ гг. Франкландъ.

Изъ этого краткаго обзора наблюденій, относящихся, безъ всякаго сомнѣнія, къ одному и тому же организму, видно, какъ мало еще опредѣленнаго и какъ много противорѣчій въ такой однако тѣсной области, какъ морфологія рудиментарнаго организма. На вопросъ какъ себѣ это объяснить, отвѣтить не трудно.

Пока рѣчь идетъ о культурахъ въ минеральныхъ растворахъ, всѣ наблюдатели находятъ приблизительно одни и тѣ же формы. Но какъ только начинаются попытки культивировать ихъ въ средахъ, содержащихъ органическія, легко разлагающіяся вещества, начинаются и разнорѣчія. Гг. Франкландъ наблюдаютъ варьированіе въ одномъ смыслѣ, г. Варингтонъ — въ другомъ, а мнѣ — какъ будетъ объяснено ниже — не удается вовсе наблюдать этихъ явленій, по той простой причинѣ, что микробы, о которыхъ идетъ рѣчь, отказываются расти въ этихъ средахъ.

Это возбуждаетъ подозрѣніе, что культуры, которыхъ считали чистыми, не были такими вполнѣ, и сейчасъ же ощущается недостатокъ въ совершенно надежномъ средствѣ контроля чистоты культуръ организмовъ нитрификаціи.

Слѣдовательно, придется постараться дать его и еще разъ вернуться къ наилучшимъ способамъ изолированія данныхъ микробовъ. Наконецъ, мнѣ неизбѣжно придется высказаться по вопросу, тѣсно связанному—какъ мы это видѣли—съ ихъ морфологіей, а именно: растутъ ли они въ обыкновенныхъ питательныхъ средахъ и оказываютъ ли на органическія вещества разлагающее и нитрифицирующее дѣйствіе. Этимъ вопросамъ я посвящу главу въ концѣ моей статьи.

Возвращаюсь къ своимъ чисто морфологическимъ изслѣдованіямъ. Тѣ, кто слѣдилъ за моими сообщеніями въ *Ann. de l'Institut Pasteur*, знаютъ, что, открывъ микроба, я сталъ искать твердую среду, годную для его культуры, и въ концѣ концовъ нашелъ ее: это растворъ минеральныхъ солей, желатинированный студенистымъ кремнеземомъ. Послѣ того какъ это удалось, организмъ казался мнѣ достаточно полно характеризованнымъ, и я собирался напечатать сообщеніе о его морфологіи съ рисунками. Но такъ какъ уже въ то время у меня было подъ наблюденіемъ нѣсколько нитрифицирующихъ организмовъ, то мнѣ пришло въ голову,

Digitized by Google

Quant à la culture dans le bouillon ordinaire, M. Warington dit ne pouvoir confirmer les observations de MM. Frankland. Dans aucune des 24 expériences qu'il a faites, il n'a vu le bouillon se troubler, devenir filant et donner un dépôt. Le liquide restait clair, et aucune végétation visible à l'oeil nu n'y apparaissait. Jamais également, M. Warington n'a trouvé ces bacilles et filaments minces, dont parlent MM. Frankland.

On voit d'après ce court aperçu des observations se rapportant, sans aucun doute, à un seul et même organisme, qu'il y a déjà assez d'incertitude et de contradiction sur un champ aussi étroit que la morphologie d'un être rudimentaire. Quelle en est la cause? Il n'est pas difficile d'y répondre.

Tant qu'il s'agit de la culture dans les solutions minérales, tous les observateurs y trouvent, en fait d'organismes, à peu près la même chose. Mais aussitôt qu'on s'efforce de les cultiver sur des milieux à matière organique fermentescible, les différences commencent. MM. Frankland observent une transformation dans un sens, M. Warington dans un autre, et moi — je le dirai tout de suite — je n'en observe aucune, par la simple raison, que les microbes en question ont refusé de pousser sur ces milieux. Ceci éveille le soupçon, que les cultures qu'on croyait pures, ne l'étaient pas absolument, et tout de suite se fait sentir le manque d'un moyen de contrôle exact de la pureté des cultures des organismes nitrificateurs.

Il faudra donc essayer de le donner dans ce mémoire, et revenir encore une fois, aux meilleurs procédés pour isoler ces microbes. On ne pourra se dispenser enfin de s'exprimer dans une question étroitement liée, comme on l'a vu, à leur morphologie, à savoir: s'ils poussent dans les milieux de culture ordinaires et s'ils exercent sur la matière organique une action décomposante et nitrificatrice. Je consacrerai à ces questions un chapitre à la fin de ce mémoire.

Je reviens à mes recherches purement morphologiques. Ceux qui ont suivi mes publications dans les *Annales de l'Institut Pasteur* savent qu'après la découverte du microbe, je me suis mis à chercher un milieu solide approprié à sa culture, et que j'ai fini par trouver ce milieu: une solution de sels minéraux, gélatinisée par la silice. L'ensemble des caractères de ce ferment nitreux me paraissant alors suffisamment tranché, j'étais sur le point de publier une note sur sa morphologie, accompagnée de planches. Mais, comme en ce moment, j'avais déjà plus d'un seul organisme nitrificateur sous observation, l'idée m'est venue d'étendre ces recherches sur tout ce groupe, et de faire une morphologie comparée de tous les microbes nitrificateurs du sol.

Digitized by Google

отложивъ пока это сообщеніе, постараться лучше дать полную сравнительную морфологію всѣхъ нитрифицирующихъ организмовъ почвы.

Съ самаго начала своихъ изслѣдованій о нитрификаціи я подозрѣвалъ, что не одной единственной формѣ слѣдуетъ приписать процессъ окисленія аммонія[1]). Дальнѣйшія изслѣдованія подтвердили вполнѣ это предположеніе.

Съ одной стороны, въ каждой почвѣ для образованія нитратовъ на счетъ аммонія необходимо содѣйствіе двухъ организмовъ: одного превращающаго амміакъ въ нитритъ, и другаго заканчивающаго окисленіе образованнаго нитрита.

Съ другой стороны, организмы съ одинаковыми функціями, но происходящіе изъ отдаленныхъ мѣстностей, имѣютъ не одинаковыя морфологическія свойства и, вѣроятно, представляютъ разные виды или разновидности.

Къ несчастію, по независящимъ отъ меня причинамъ, я не могъ выполнить своего плана — изучить всю маленькую нитрифицирующую флору земной коры. Въ настоящее же время я не имѣю болѣе ни культуръ значительнаго числа этихъ организмовъ, ни образчиковъ земли, изъ которыхъ можно было бы ихъ извлечь. Я имѣлъ время вполнѣ основательно изучить только 2 или 3 нитрозныхъ организма; нѣкоторые другіе были изучены мною достаточно для сравненія ихъ съ тѣми, которыхъ я зналъ лучше, и для заключенія о ихъ идентичности или неидентичности.

Что касается до организмовъ, окисляющихъ нитриты, то изученіе ихъ не много подвинулось со времени напечатанія моего 5-го сообщенія.

II.

Начнемъ съ исторіи микроба, съ которымъ я познакомился раньше другихъ — съ нитрознаго организма Цюрихской земли. Прослѣдимъ ростъ его въ растворахъ неорганическихъ солей, содержащихъ отъ 2 до 2,5 на тысячу сѣрно-кислаго аммонія[2]). Глубина жидкости около одного сантиметра; осадокъ магнезіи покрываетъ дно сосуда однообразнымъ слоемъ. Сосуды стоятъ при температурѣ въ 29—30°.

Возьмемъ типичный случай, когда культура засѣяна молодыми и дѣятельными клѣточками, которыя немедленно вызываютъ очень энергичную нитрификацію. Черезъ 2 дня реакція нитрита уже замѣтна. Черезъ 4—5 дней она очень интенсивна, но амміака еще довольно. Микроскопическое изслѣдованіе въ этотъ моментъ часто не открываетъ организмовъ, особенно если не знаешь точно, какъ и гдѣ ихъ искать. Въ препаратахъ, приго-

1) Первое сообщеніе, стр. 230.

2) Въ послѣднее время я кромѣ обыкновенныхъ питательныхъ солей прибавлялъ еще поваренной соли, до 2 ч. на тысячу, что значительно содѣйствовало энергіи процесса.

Digitized by Google

Le fait soupçonné déjà au début de mes recherches sur la nitrification, que ce n'est pas une seule et même forme qui préside partout à l'oxydation de l'ammoniaque [1]), s'est montré parfaitement exact.

D'un côté, le concours de deux organismes est nécessaire pour former dans chaque sol, des nitrates aux dépens de l'ammoniaque: du ferment nitreux, transformant l'ammoniaque en nitrite, et du ferment nitrique qui achève l'oxydation du nitrite formé.

D'un autre côté, les organismes à fonction semblable, mais provenant de localités éloignées, n'ont pas les mêmes propriétés morphologiques et présentent probablement des espèces ou variétés différentes.

Malheureusement, le plan que j'avais d'étudier toute la petite flore nitrifiante de l'écorce terrestre n'a pu être mené à bout, pour des raisons qui ne dépendent pas de moi. Et maintenant je ne possède plus de cultures d'une grande partie de ces organismes, ni d'échantillons de terres d'où on pourrait les extraire. Je n'ai eu le temps d'étudier à fond que 2 ou 3 organismes nitreux; plusieurs autres ont été étudiés suffisamment pour pouvoir les comparer avec ceux qu'on connaissait mieux, et tirer des conclusions sur leur identité ou non identité.

Quant aux ferments nitriques, leur étude n'a plus beaucoup avancé depuis la publication de mon 5-me mémoire.

II.

Commençons par l'histoire du microbe, que j'ai connu le premier — le ferment nitreux de la terre de Zurich. Suivons sa croissance dans une solution minérale [2]), contenant 2 à 2.5 pour mille de sulfate d'ammoniaque. L'épaisseur du liquide est d'un centimètre environ; le carbonate de magnésie couvre le fond du vase d'une couche uniforme. On tient les vases à 29—30°.

Prenons le cas typique d'une culture ensemencée par des cellules jeunes et actives, qui provoquent tout de suite une nitrification très-énergique. Au bout de deux jours, la réaction de nitrite est déjà très-perceptible. Au bout de 4—5 jours elle est très-intense, mais il y a encore assez d'ammoniaque. En faisant, à ce moment, une étude microscopique du liquide, on ne trouve souvent rien en fait d'organismes, surtout si on ne sait pas au

1) 1-er mémoire, p. 230.

2) Avec les sels nutritifs ordinaires j'ajoutais dernièrement une assez forte dose — jusqu'à 2 p. m. — de sel marin, ce qui m'a paru beaucoup favoriser l'énergie de l'oxydation.

Digitized by Google

товленныхъ изъ капель, взятыхъ съ поверхности, высушенныхъ и окрашенныхъ обыкновеннымъ способомъ, нѣтъ ничего; надо взять при помощи изогнутаго платиноваго ушка немножко осадка со дна и приготовить окрашенный препаратъ. Даже и тогда приходится долго искать, прежде чѣмъ найдешь что-либо, и то, что̀ наконецъ попадается, имѣетъ видъ несовсѣмъ привычный для бактеріолога: круглыя или овальныя зерна, относительно очень большія, то изолированныя, то расположенныя парами или группами. Очень различныя по величинѣ — отъ 10 до 50 μ и болѣе — и окрашенныя очень интенсивно, до непрозрачности, зерна эти съ перваго взгляда производятъ впечатлѣніе осадка красящаго вещества, а не организмовъ. Только при осторожномъ окрашиваніи или, еще лучше, при изслѣдованіи просто въ каплѣ раствора іода удается разсмотрѣть строеніе этихъ зеренъ: они состоятъ изъ овальныхъ тѣлецъ, сдавленныхъ безъ промежутка въ очень компактную массу, окруженную студенистой оболочкой, которая окрашивается гораздо слабѣе клѣточной массы. Очевидно мы имѣемъ здѣсь дѣло съ настоящими *зоогленями*, съ дифференцированными колоніями микроба. (См. фиг. 6, 7, 15).

Микроскопическое изслѣдованіе чистой культуры въ этомъ состояніи показываетъ, такимъ образомъ, что бактеріи распредѣлены въ ней очень неравномѣрно. Послѣ засѣва клѣточки очевидно упали на дно сосуда и выросли здѣсь каждая въ плотную колонію, оставивъ жидкость вполнѣ, осадокъ — въ большей части свободными отъ всякаго роста. Не смотря на это, окисленіе идетъ довольно хорошо, сосредоточиваясь, повидимому, вокругъ этихъ скопленій живыхъ клѣточекъ.

Въ концѣ седьмаго дня (часто позже) жидкость, до сихъ поръ совершенно прозрачная, мутнѣетъ. Появленіе мути начинается слабой опалесценціей, которая быстро усиливается и черезъ нѣсколько часовъ превращается въ ясную муть; муть эта все-таки несравненно слабѣе той, которая замѣчается напримѣръ въ загнившемъ бульонѣ. Если сосудъ содержался въ полномъ покоѣ, легко замѣтить, что муть нѣсколько сильнѣе у поверхности жидкости. Подъ микроскопомъ капелька съ поверхности оказывается кишащей подвижными микробами той формы и размѣровъ, которые были указаны выше. Они движутся часто очень энергично, съ легкимъ дрожаніемъ обоихъ концовъ тѣла, описывая въ жидкости болѣе или менѣе большіе круги.

Вопросъ о происхожденіи этихъ подвижныхъ клѣточекъ, которыхъ до этого не было, рѣшается своевременнымъ микроскопическимъ изслѣдованіемъ находящагося на днѣ слоя магнезіи. Характерныя колоніи, оказывается, почти исчезли. Видъ большихъ группъ клѣтокъ, которыя еще по-

Digitized by Google

juste où il faut les chercher. Dans des préparations faites de gouttes prises à la surface, séchées et colorées comme d'ordinaire, il n'y a rien; il faut prendre, avec une anse de platine recourbée, un peu de la couche du fond et faire une préparation colorée. Alors même, on cherche longtemps avant de trouver des végétations microbiennes; et celles qu'on trouve ont un aspect assez peu familier au bactériologiste: des corps ronds ou ovales, relativement très-grands, isolés ou accolés l'un à l'autre par deux et par groupes. Très-différents de taille — de 10 à 50 μ et au-delà — et colorés avec une intensité extraordinaire, ces corps font au premier abord, l'effet d'un précipité de matière colorante. Ce n'est qu'en colorant avec précaution, ou mieux encore en examinant tout simplement la lamelle séchée dans une goutte d'une solution d'iode, qu'on distingue la structure de ces corps: ils se composent de corpuscules oblongs comprimés sans interstices en une masse très compacte, entourée d'une couche de substance amorphe, sorte de membrane qui se colore beaucoup plus faiblement que la masse des cellules. On a donc affaire à des *Zooglées* caractéristiques, à de vraies colonies du microbe (fig. 6, 7, 15).

L'examen microscopique des cultures pures à cet état montre ainsi, que les cellules sont réparties très-inégalement dans la culture. Ensemencées dans le liquide, elles sont évidemment tombées au fond du vase, et y ont poussé chacune en une colonie compacte, laissant le liquide complètement, le dépôt en majeure partie, libre de toute végétation. L'oxydation va pourtant assez bien, en se concentrant apparemment autour de ces amas de cellules vivantes.

Au bout du septième jour (souvent plus tard), le liquide surnageant, limpide jusqu'à présent, devient trouble. Le trouble commence par une faible opalescence, et devient au bout de quelques heures très prononcé, ne se rapprochant pas cependant, même de loin, en intensité, d'un bouillon, troublé par les bactéries. Si le vase a été tenu au repos complet, on remarque facilement que le trouble est plus accentué à la surface du liquide. En y puisant une goutte, et en l'examinant au microscope, on voit que des microbes mobiles y pullulent, dont la forme et les dimensions ont été décrites plus haut. Il se meuvent d'une manière souvent très-énergique, avec un léger tremblement des deux bouts de leur corps, en décrivant dans le liquide, des cercles plus ou moins grands.

La question de l'origine de ces cellules mobiles, absentes jusqu'à présent, est résolue par une étude microscopique faite à temps, du dépôt de carbonate du fond. Les colonies caractéristiques ont presque disparu. L'aspect des groupes massifs qu'on trouve encore est tout autre, on peut pourtant les

Digitized by Google

падаются кое-гдѣ, совершенно измѣнился; тѣмъ не менѣе не трудно узнать, что эти группы произошли изъ тѣхъ же зооглей, измѣнившихъ свою плотную структуру на совершенно рыхлую. Такая масса иногда еще сохраняетъ округленную форму, но клѣточки не соприкасаются болѣе, и контуръ уже не рѣзко очерченъ. Иногда въ центрѣ еще можно различить плотную массу, сохранившую первоначальное строеніе, окруженную клѣточками все болѣе и болѣе разъединенными и, наконецъ, совершенно разсѣянными. Иногда расползаніе, повидимому, начинается только съ одной стороны, на периферіи; съ другой, компактное строеніе и рѣзкій контуръ остаются еще неизмѣненными и т. д.

Наблюдая эти образованія въ висячей каплѣ, можно непосредственно прослѣдить явленіе окончательнаго разсѣиванія группъ и переходъ клѣточекъ въ подвижное состояніе.

Надо замѣтить, что въ періодъ образованія подвижныхъ клѣточекъ въ культурахъ, реакція нитрита всегда уже достигла maximum'а интенсивности, но слѣды аммонія всегда еще есть. Несслеровская реакція въ это время часто очень слаба, но всегда замѣтна.

По прошествіи 24—48 часовъ муть начинаетъ исчезать, и въ то же время слой магнезіи на днѣ сосуда принимаетъ новый видъ. Если культура оставалась все время въ покоѣ, то осадокъ оказывается затянутымъ студенистой пленкой, присутствіе которой узнается по тому, что мелкія частицы соли не поднимаются въ жидкости при легкомъ колебаніи сосуда; при болѣе сильномъ колебаніи замѣчаешь, что по поверхности осадка тянутся морщинки, пока наконецъ весь осадокъ не превращается въ маленькіе сѣроватые хлопья. Въ это время можно быть увѣреннымъ, что нитрификація уже закончена.

Микроскопическое изслѣдованіе осадка, сдѣланное теперь, показываетъ, что бактеріи распредѣлены въ немъ совершенно равномѣрно; разъединенныя или въ маленькихъ группахъ, покрываютъ онѣ частицы магнезіи (фиг. 1). Можно подозрѣвать присутствіе студенистаго вещества, которое связываетъ клѣточки между собою и съ магнезіей, судя по самому факту образованія пленокъ или хлопьевъ. Но эти массы не имѣютъ характера дифференцированныхъ колоній клѣточекъ-сестеръ, какъ зооглеи, описанныя выше.

Разъ амміакъ исчезъ, жизнь въ культурѣ останавливается, микроскопическое изслѣдованіе не констатируетъ въ ней болѣе никакихъ перемѣнъ, кромѣ медленнаго истощенія и, наконецъ, смерти бактерій.

Этотъ ходъ развитія микроба въ связи съ ходомъ нитрификаціи, который мы только-что очертили, мы считаемъ типичнымъ случаемъ. Мы

Digitized by Google

reconnaître facilement pour ces mêmes colonies, mais à moitié désagrégées. La masse a quelquefois encore conservé la forme arrondie, mais les cellules ne se touchent plus, et le contour n'est plus net et uni, mais diffus. Quelquefois, on peut encore distinguer au centre, un noyau ayant conservé la structure dense de l'origine, entouré de cellules de plus en plus séparées, et enfin complètement dispersées. Il y en a d'autres groupes, où la dissolution n'a commencé apparemment que d'un côté de leur périphérie; de l'autre, la structure compacte et le contour net sont restés encore sans changement etc. etc.

En observant ces formations en goutte pendante, on réussit à suivre, sur le vivant, le phénomène de la séparation définitive des cellules et leur passage à l'état mobile.

Il est à noter, que pendant la période de la formation des cellules mobiles dans les cultures, la réaction de nitrite a toujours atteint une intensité maximum, mais l'ammoniaque ne fait jamais complètement défaut. La réaction de Nessler est alors souvent très-faible, mais toujours perceptible.

Après une durée de 24 à 48 heures, le trouble commence à disparaître, et en même temps, la couche du carbonate du fond prend un aspect nouveau. Si la culture était en repos tout le temps, ce dépôt se montre recouvert d'une membrane gélatineuse, reconnaissable à ce que les particules fines du sel ne se soulèvent pas dans le liquide légèrement remué; en balançant les vases, on remarque que des petites rides se forment sur la surface du dépôt qui se resout finalement en petits flocons grisâtres. La nitrification est alors déjà terminée.

L'étude microscopique du dépôt, faite à présent, montre que les cellules y sont reparties également, dispersées ou réunies en petits groupes, et assises sur les particules du sel (fig. 1). On peut soupçonner la présence d'une substance gélatineuse, qui lierait ces cellules entre elles et avec le carbonate, d'après le fait même de la formation de cette membrane ou de flocons légers. Mais, la masse n'a pas ce caractère de colonie différenciée de cellules-soeurs, comme les zooglées ci-dessus décrites.

Une fois l'ammoniaque disparu, la vie s'arrête dans la culture, l'examen microscopique n'y constate plus aucun changement, si ce n'est l'épuisement et la mort des cellules.

Nous avons esquissé le développement du microbe, parallèlement à la marche de la nitrification, dans un cas que nous considérons comme typique. Nous l'avons observé plus d'une centaine de fois pendant nos études sur la nitrification qui approchent vers la fin de leur troisième année.

Digitized by Google

наблюдали его сотни разъ во время нашихъ изслѣдованій надъ нитрификаціей, которыя длятся уже скоро три года.

Но отступленія вовсе не рѣдки и, какъ мы увидимъ, заслуживаютъ того, чтобы сказать о нихъ нѣсколько словъ.

Мы видѣли, что микробъ является въ двухъ состояніяхъ: то въ видѣ свободныхъ и подвижныхъ клѣточекъ — мы назовемъ ихъ форма *monas* — то въ видѣ плотныхъ колоній — назовемъ ихъ форма *zoogloea*. Вотъ и случается наблюдать, что то одна изъ этихъ формъ является преобладающей, то другая, въ самой различной степени, вплоть до полнаго исчезанія одной изъ нихъ. Возможно, что образованіе обѣихъ все-таки происходитъ и ихъ не удается найти только вслѣдствіе ихъ скоропреходящаго образованія [1]). Результатъ тѣмъ не менѣе тотъ, что микроскопическія картины, въ случаѣ исключительнаго преобладанія одной или другой формы, получаются совершенно различныя и навязывается заключеніе, что имѣешь дѣло съ разными организмами. На самомъ же дѣлѣ этого вовсе нѣтъ.

Интересно, что склонность расти преимущественно въ формѣ *monas* или *zoogloea*, разъ обнаружившись, часто становится довольно устойчивой и даже иногда усиливается все болѣе и болѣе. Чтобы лучше наблюдать это, слѣдуетъ поддерживать ростъ прибавленіемъ новыхъ дозъ аммонія въ одной и той же культурѣ, въ которой замѣтили ту или другую склонность. Этимъ путемъ можно достичь двухъ противоположныхъ крайностей въ одномъ и другомъ направленіи. Напримѣръ, для роста въ формѣ зооглеи: жидкость все время остается совершенно прозрачной, лежащій на днѣ осадокъ состоитъ изъ хлопьевъ; подъ микроскопомъ эти хлопья представляются образованными исключительно изъ округленныхъ зооглей, изолированныхъ, или соединенныхъ въ большія лепешки, достигающія и даже превосходящія 1 mm. (см. фиг. 6, 7, 8, 15). Уже при увеличеніи въ 100 діаметровъ эти массы кажутся довольно большими; видъ ихъ очень оригинальный (см. фиг. 7). Въ удачно окрашенныхъ препаратахъ можно констатировать, что эти зооглеи имѣютъ студенистую пленку или оболочку, относительно толстую, которая состоитъ изъ двухъ слоевъ: внѣшній слой очень тонокъ и хорошо окрашивается, внутренній — болѣе толстъ и окрашивается очень слабо (см. ф. 15). Свободныхъ клѣточекъ вовсе нѣтъ.

Характеръ монадныхъ культуръ совсѣмъ иной: жидкость мутна, осадокъ почти вовсе не содержитъ хлопьевъ. Муть держится долго и начинаетъ исчезать только тогда, когда аммонія больше нѣтъ. Но если немед-

1) Ясно, напримѣръ, что въ очень слабомъ амміачномъ растворѣ, въ которомъ нитрификація остается незначительной, муть не будетъ видна, и открыть въ ней монадъ окажется труднымъ.

Digitized by Google

Mais les exceptions ne sont pas rares du tout, et elles méritent bien qu'on en dise quelques mots, comme nous le verrons.

Nous avons vu que le microbe a deux états: il se présente tantôt en cellules libres et souvent mobiles — nous désignerons cet état du nom de *forme Monas*, — tantôt en colonies compactes, — c'est *la forme Zoogloea*. Eh bien, il arrive parfois que l'une ou l'autre de ces formes prédomine à un degré différent, parfois même, il parait qu'elle est seule. Il se peut qu'on ne réussisse pas à trouver l'un ou l'autre de ces stades, à cause de leur formation très-passagère[1]). Le résultat n'en est pas moins que le coup d'oeil microscopique est absolument différent, et on croirait sûrement avoir affaire à des organismes différents. Il n'en est pourtant rien.

L'intéressant est ici que la tendance à croître comme monade ou comme zooglée, une fois apparue, se maintient souvent assez stable et s'accentue encore quelquefois de plus en plus. Pour observer ceci d'une manière plus frappante, il convient de maintenir la végétation, au moyen de doses renouvelées d'ammoniaque, dans une seule et même culture, où l'on a constaté l'une ou l'autre tendance. Les extrêmes opposés dans les deux directions peuvent être alors atteints. Par exemple, pour la végétation zoogléique: le liquide reste absolument limpide tout le temps, le dépôt du fond est floconneux et en même temps granuleux. Au microscope, les flocons se présentent comme formés exclusivement par des zoogloea arrondies (fig. 6, 8, 15) isolées ou réunies en masses énormes, atteignant et dépassant 1 mm. A un grossissement de 100 diamètres, ces masses paraissent déjà assez grandes, et leur aspect est très original (v. fig. 7). Dans des préparations colorées réussies, on constate que ces zooglées ont une membrane ou enveloppe gélatineuse relativement épaisse, composée de deux couches: la couche extérieure est très-mince et se colore bien, la couche intérieure est plus épaisse et se colore très-faiblement (v. fig. 15). De cellules libres, on n'en trouve pas du tout.

Tout autre est le caractère des cultures à monades, qu'on prolonge, par des doses, bien mesurées et ajoutées à temps, de sel ammoniacal. Le liquide est trouble, le dépôt n'est presque pas floconneux. Ce trouble dure plusieurs jours, et il ne montre tendance à disparaître que quand l'ammoniaque fait défaut. Mais, si on en donne de nouveau, le trouble devient, dans

---

1) Il est clair aussi, par exemple, que dans une solution ammoniacale très faible on ne verra pas de trouble et on réussira difficilement à y découvrir des monades.

Digitized by Google

ленно его опять прибавить, то муть въ нѣсколько часовъ становится опять такой же интенсивной, какъ прежде. Подъ микроскопомъ всѣ бактеріи оказываются свободными и большей частью подвижными. Иногда подвижность такъ велика, что неподвижныхъ клѣточекъ не находишь, и даже тѣ клѣточки, которыя не обнаруживаютъ поступательнаго движенія, вращаются вокругъ своей оси на мѣстѣ.

Можно не только поддерживать однообразный характеръ роста микроба въ одной и той же культурѣ, но и въ рядѣ послѣдовательныхъ культуръ, засѣвая, какъ обыкновенно, слѣдомъ послѣдней культуры. Въ такихъ случаяхъ получаются какъ бы двѣ расы одного и того же микроба. Потомъ вдругъ исчезнувшая форма роста является снова, вслѣдствіе какихъ вліяній, неизвѣстно.

Въ природѣ микробъ, вѣроятно, обнаруживаетъ тѣ же явленія развитія, какъ и въ нашихъ культурахъ. И я замѣчу, что въ культурахъ, засѣянныхъ прямо землею, микробъ очень часто даетъ исключительно зооглеическій ростъ.

Къ характеристикѣ этихъ двухъ состояній микроба надо прибавить, что они отличаются другъ отъ друга не только по виду, но и по функціи: не по отношенію къ качеству, но по отношенію къ энергіи ея. Дѣйствіе зооглей несравненно медленнѣе, чѣмъ дѣйствіе монадъ. Надо-ли искать объясненія этого факта въ томъ, что монады, будучи подвижны и безъ сомнѣнія одарены хемотактическими свойствами, циркулируютъ въ средѣ, отыскивая кислородъ, аммоній и т. д., тогда какъ зооглеи, неподвижныя на днѣ сосуда, могутъ получать все необходимое для процесса окисленія только путемъ диффузіи? Или же сама окисляющая способность живой протоплазмы болѣе сильна у монадныхъ формъ? Трудно сказать. Но можно принять, что монады являются дѣятельною формою, тогда какъ зооглеи въ извѣстной степени выполняютъ функцію состояній покоя или сохраненія.

Только что сказанное имѣетъ значеніе для всѣхъ занимающихся опытами нитрификаціи, такъ какъ много неправильностей и различій въ опытахъ объясняется этими частыми колебаніями микроба между двумя состояніями не одинаково дѣятельными. Бываетъ, напримѣръ, что нитрификація въ рядѣ культуръ, до того очень дѣятельныхъ, становится, послѣ новаго пересѣва, вдругъ очень медленной безъ всякой видимой причины. Это замедленіе и это уменьшеніе энергіи, при полной одинаковости всѣхъ условій, всегда совпадаетъ, какъ мнѣ показали многочисленныя наблюденія, со слишкомъ обильнымъ образованіемъ зооглеической формы микроба.

Еще примѣръ: если засѣять культуру землею, долго сохранявшеюся сухою, то нитрификація всегда наступаетъ очень медленно. Когда она на-

Digitized by Google

quelques heures, aussi intense qu'il était primitivement, même plus. Au microscope, toutes les cellules sont libres, immobiles ou mobiles. Souvent, la mobilité est tellement exagérée, qu'on n'en trouve plus d'immobiles, et même celles qui restent sur place montrent un mouvement rotatoire autour de leur axe.

Non seulement, on réussit à maintenir le caractère uniforme de la végétation du microbe dans une seule et même culture, mais aussi quelquefois, dans une série de cultures successives, en ensemençant, comme d'ordinaire, avec une trace de la plus récente. On a alors, pendant un certain temps, comme deux races du même microbe. Puis, l'une ou l'autre forme absente apparaît tout à coup de nouveau, sans qu'on sache pourquoi.

Dans la nature, le microbe se comporte probablement, sous ce rapport, comme dans nos cultures. Et je ferai remarquer, que dans des cultures ensemencées directement avec de la terre, la végétation du microbe est très-souvent exclusivement zoogléique.

Il faut ajouter à la caractéristique de ces deux états du microbe, qu'ils se distinguent l'un de l'autre, non seulement d'aspect, mais aussi de fonction: non par rapport à la qualité, mais par rapport à l'énergie. L'action des zooglées est, sans comparaison, plus lente que celle des monades. Faut-il en chercher l'explication dans ce que les monades, étant mobiles et sans doute douées de propriétés chimiotoxiques, circulent dans le milieu à la rencontre de l'oxygène, de l'ammoniaque etc., tandis que les zooglées, immobiles au fond du vase, ne peuvent recevoir tout ce qui est nécessaire au phénomène d'oxydation que par diffusion? Ou bien, le pouvoir oxydant lui-même du protoplasma vivant est exalté chez les monades? Il est difficile de le dire. Mais, on peut admettre que les monades représentent la forme active, tandis que les zooglées ont, à un certain degré, la fonction d'état de repos ou de conservation.

Ce résultat est à noter pour tous ceux qui s'occupent d'expériences sur la nitrification. Il m'a expliqué beaucoup d'irrégularités et de différences dans les expériences. On observe, par exemple, que la nitrification dans une série de cultures, très-actives jusque là, devient, après un nouvel ensemencement, très-lente. Ce retard et cette diminution d'énergie, toute condition maintenue égale, coïncide toujours, comme me l'ont montré de nombreuses observations, avec la formation trop abondante de la forme zoogléique du microbe.

Encore un exemple: si on ensemence une culture avec de la terre longtemps conservée ou sèche, une nitrification lente est la règle générale. Quand la nitrification s'est enfin déclarée, il arrive souvent que les cultures-filles,

Digitized by Google

конецъ объявится, случается, что если изъ нея сдѣлать пересѣвы, культуры-дочери не нитрифицируютъ вовсе. Объяснить эту неудачу отсутствіемъ въ почвѣ специфическаго микроба — было бы невѣрнымъ. Причину медленной нитрификаціи и недѣйствительности посѣва опять таки надо искать въ исключительно зооглеическомъ ростѣ микроба. Культура очевидно содержала относительно мало разсѣянныхъ въ осадкѣ зооглей, а слѣдъ жидкости или осадка, который изъ нея взяли для посѣва, не содержалъ ихъ вовсе. Но если подождать, пока эта самая культура-мать окислитъ разъ или два раза отъ 40 до 50 мгр. сѣрно-кислаго аммонія, то каждая малѣйшая частица осадка окажется тогда дѣйствительной [1]).

Можно спросить себя теперь, подъ какую рубрику явленій слѣдуетъ подвести только-что изложенные факты: надо-ли видѣть тутъ простыя явленія развитія, или же варьированіе, образованіе разновидностей или расъ? Несомнѣнно, что обѣ стадіи входятъ въ развитіе микроба; я думаю даже, что ни одна изъ нихъ никогда не исчезаетъ совершенно, но правильной смѣны ихъ очень часто не замѣчается. Относительно внѣшнихъ причинъ, обусловливающихъ то или другое состояніе, вообще можно сказать, что всякое вліяніе, понижающее жизненную энергію клѣточекъ и раздражительность протоплазмы, благопріятствуетъ образованію зооглей. Противоположныя вліянія способствуютъ образованію монадъ. Дезагрегацію зооглей слѣдуетъ понимать по моему мнѣнію какъ явленіе активное, какъ результатъ перехода клѣточекъ въ подвижное состояніе подъ вліяніемъ извѣстныхъ раздраженій. Самыхъ легкихъ воздѣйствій достаточно, чтобы вызвать исключительное образованіе той или другой формы. Стоитъ, напримѣръ, оставить культуру на нѣкоторое время безъ аммонія, чтобы получить усиленное образованіе зооглей. Не такъ легко вызвать по произволу появленіе подвижныхъ монадъ, если ихъ долго не было. Въ концѣ концовъ можно сказать, что организмъ всегда находится въ неустойчивомъ равно-

1) Я счелъ нужнымъ остановиться на этихъ подробностяхъ, чтобы предупредить возможность недоразумѣній подобныхъ тому, которое я нахожу въ замѣткѣ г. Шюаръ: «Sur l'existence de phénomènes de nitrification dans des milieux riches en substances organiques et à réaction acide» (C. R. t. CXIV, № 4). Этому ученому не удалось выдѣлить нитрознаго микроба изъ одной торфяной почвы. Послѣ введенія небольшаго количества этой земли въ амміачный растворъ, появлялась черезъ нѣкоторое время реакція нитрита, но послѣдующіе пересѣвы остались безъ результата. Г. Шюаръ, повидимому, считаетъ это доказательствомъ того, что земля его не содержала нитрозныхъ микробовъ, подобныхъ изслѣдованнымъ мной. Этотъ ученый любезно прислалъ мнѣ изъ Лозанны два образчика этой земли подъ этикетами: I. *Старая торфяная земля*, II. *Сѣжая торфяная земля. Оба образчика дали мнѣ прекрасныя культуры* микроба, совершенно идентичнаго съ микробомъ Цюрихской земли. Но онъ именно обнаруживалъ самое типичное и исключительное зооглеическое состояніе, какое я когда-либо наблюдалъ, что̀ и объясняетъ нѣкоторыя затрудненія и замедленія, встрѣтившіяся при попыткахъ заставить его работать въ культурахъ.

Digitized by Google

ensemencées par cette culture, ne nitrifient pas. Voudrait-on expliquer cet insuccès par le manque du microbe spécifique dans le sol, on aurait tort. La cause de la nitrification lente et de la stérilité apparente de la semence est de nouveau à chercher dans l'état exclusivement zoogléique du microbe. La culture ne contenait que relativement peu de zooglées disséminées, et la trace de liquide ou du dépôt qu'on y a puisé n'en contenait pas du tout. Mais attendez que cette même culture-mère eût nitrifié une ou deux fois 40 à 50 mgr. de sulfate d'ammoniaque, et chaque particule du dépôt se montrera alors fertile[1]).

Pour terminer le récit de ces faits, on peut se demander comment faut-il les classer: faut-il y voir de simples phénomènes de développement, ou y a-t-il variation, formation de variétés ou de races? Il est certain que les deux stades font partie du développement du microbe — et je crois même, que jamais aucune d'elles ne disparaît complètement — mais souvent, on ne remarque plus trace d'une succession régulière. En général, on peut dire, que chaque influence nocive, qui diminue l'énergie vitale des cellules, l'irritabilité du protoplasma, amène la croissance en zooglées. Le contraire est le cas des monades. Car il me semble que la désagrégation des zooglées est un phénomène actif, résultat de l'action des cellules vivantes, obéissant à certaines irritations qui provoquent leur mobilité. Des influences très-légères suffisent pour favoriser l'un ou l'autre mode de croissance. Il suffit, par exemple, de laisser une culture, quelque temps sans ammoniaque, pour avoir une production exagérée de zooglées. L'apparition de monades mobiles longtemps absentes n'est pas si facile à provoquer à volonté, mais elle reprend spontanément, sans qu'on sache à quelles raisons l'attribuer. En somme, l'organisme est toujours en équilibre instable entre les deux états, qui lui sont propres, et c'est un de ses traits les plus caractéristiques.

---

1) J'insiste sur ces détails après avoir lu la note de M. Chuard «Sur l'existence de phénomènes de nitrification dans des milieux riches en substances organiques et à réaction acide» (C. R. t. CXIV № 4). Ce savant n'a pas eu de succès dans ses efforts de retrouver le microbe nitreux dans une terre de tourbe. Introduite dans la solution ammoniacale elle a donné la réaction de nitrite après un certain temps, mais les ensemencements successifs sont restés sans résultat. M. Chuard parait voir dans cet échec une preuve que sa terre ne contenait pas de ferments nitreux comme ceux que j'ai fait connaître. M. Chuard a eu la complaisance de m'envoyer de Lausanne deux échantillons de sa terre: I. *terre de tourbe ancienne.* II. *terre de tourbe récente. Les deux m'ont donné de très-belles cultures,* et le microbe s'est montré tout-à-fait identique à celui de la terre de Zurich. Mais il montrait l'état zoogléique le plus prononcé et typique, et ceci explique les quelques difficultés et lenteurs qu'on a rencontré en voulant le faire travailler dans les cultures.

Digitized by Google

вѣсіи между двумя свойственными ему состояніями, и это — одно изъ наиболѣе характерныхъ его свойствъ.

Прибавлю нѣсколько словъ къ сказанному прежде о формѣ и величинѣ клѣточки микроба. Въ извѣстныхъ границахъ, конечно, онѣ очень постоянны. Когда ростъ энергиченъ, форма ихъ приближается болѣе къ сферической; когда ростъ останавливается — преобладаютъ клѣточки удлиненныя; при этомъ онѣ часто вздуты къ одному изъ концовъ, несоразмѣрно велики и худо окрашиваются. Клѣточки даже изолированныя повидимому имѣютъ студенистую оболочку (*Kapsel* нѣмецкихъ авторовъ), которая окрашивается очень слабо, такъ что ее не всегда удается видѣть. Иногда она очень явственна, контуръ ея очень опредѣленный, а толщина превосходитъ полъдіаметра клѣточки. Иногда же вокругъ клѣточки замѣчаешь только окрашенный ореолъ.

Въ виду образованія большихъ пакетовъ клѣточекъ является вопросъ, не дѣлятся-ли онѣ по тремъ направленіямъ пространства, вродѣ сарцинъ. На свободныхъ клѣточкахъ никогда не наблюдается этого способа дѣленія. По отношенію къ клѣточкамъ, соединеннымъ въ плотные пакеты, вопросъ трудно рѣшить. Но наблюдая самыя маленькія зооглеи, я вывелъ то заключеніе, что клѣточки дѣлятся только въ одномъ направленіи, перемѣщаясь по мѣрѣ увеличенія ихъ числа.

Мнѣ удалось обнаружить, окрашиваніемъ по методу Лёфлера, присутствіе рѣсничекъ у подвижныхъ клѣточекъ. Каждая клѣточка несетъ всего одну рѣсничку въ формѣ коротенькой спирали, въ одинъ или полтора оборота (фиг. 2). Хорошіе препараты приготовить не легко, потому что рѣснички очень легко отрываются и слабо окрашиваются. Онѣ сдѣлались видимы по прибавленіи къ раствору дубильно-кислаго желѣза отъ 10 до 15 капель 1% раствора ѣдкаго натра.

Перехожу теперь къ культурѣ этого микроба въ твердой средѣ.

Способъ приготовленія студенистаго кремпезема, благопріятнаго для культуры нитрозныхъ микробовъ состава, былъ мною описанъ въ *Ann. de l'Institut Pasteur* № 2. 1891. Съ тѣхъ поръ я нѣсколько разъ измѣнялъ его составъ и способъ приготовленія; ниже я скажу объ этомъ нѣсколько словъ.

Въ удачныхъ культурахъ уже къ четвертому дню появляются колоніи, видимыя при увеличеніи во 100 разъ, въ формѣ круглыхъ, сильно преломляющихъ свѣтъ, тѣлецъ съ чернымъ контуромъ. Черезъ 7—8 дней эти колоніи достигаютъ діаметра отъ 40 до 60 μ и показываютъ бурую окраску, которая становится все болѣе и болѣе сильной и переходитъ наконецъ въ характерный чернобурый цвѣтъ. Строеніе этихъ колоній очень плотно,

Digitized by Google

Je n'ajouterai que quelques mots à ce qui a été dit plus haut sur la forme et la grandeur de la cellule du microbe. Dans certaines limites, naturellement, elles sont très-constantes. Quand il y a croissance énergique, leur forme se rapproche d'une sphère, quand il y a arrêt de végétation, les cellules allongées prédominent; elles sont alors souvent renflées à l'un des bouts, démesurément grandes, et se colorent mal. Les cellules, même isolées, paraissent avoir une membrane gélatineuse (*Kapsel* des auteurs allemands), qui se colore très-faiblement, de sorte qu'on ne réussit pas toujours à la voir. Quelquefois elle est très-distincte, ses contours très-nets et son épaisseur dépasse un demi-diamètre de la cellule. D'autres fois, on ne remarque qu'une auréole colorée autour de la cellule.

Vu la formation de grands paquets de cellules, il y avait lieu de se demander, si elles ne se divisent pas dans les drois directions de l'espace, comme les sarcines. Sur les cellules libres, on ne remarque rien d'un tel mode de division. La question ne se laisse pas décider par rapport à des cellules réunies en paquet compacte. Mais, en observant les toutes petites zooglées, j'ai cru pouvoir tirer la conclusion, que les cellules ne s'allongent que dans une direction, en changeant d'orientation, à mesure de leur multiplication.

J'ai réussi à démontrer la présence des cils chez les cellules mobiles, par la méthode Loeffler. Chaque cellule n'en porte qu'un, en forme d'une courte spirale d'un à un et demi tour (fig. 2). Les bonnes préparations ne sont pas faciles à faire, car les cils se détachent très-facilement et se colorent faiblement. Elles deviennent visibles, quand on additionne le ferrotannate servant de mordant, de 10 à 15 gouttes de solution de soude à 1 p. cent.

Je passe maintenant à la culture du microbe dans le milieu solide.

La méthode de préparation d'une silice gélatineuse de composition favorable à la culture de microbes nitreux a été décrite dans les *Annales de l'Institut Pasteur* 1891, № 2. J'ai, maintes fois depuis, changé sa composition et son mode de préparation. J'en dirai quelques mots plus bas.

Sur ces plaques de silice, des colonies visibles à un grossissement de 100 apparaissent déjà vers la quatrième journée, sous forme de corpuscules ronds très réfringents, à contour noir. Au bout de 7 à 8 jours, les colonies atteignent un diamètre de 40 à 60 μ et sont déjà d'une couleur brune qui s'accentue de plus en plus jusqu'à devenir d'un brun-noir très-caractéristique. La structure des colonies reste très-compacte, le contour très-marqué. Celles de la surface conservent leur forme ronde (fig. 14), tandis

Digitized by Google

контуръ рѣзко очерченъ. Находящіяся на поверхности сохраняютъ свою круглую форму (фиг. 14), тогда какъ находящіяся внутри среды становятся все болѣе и болѣе угловатыми (фиг. 13); въ связи съ ихъ очень сильнымъ свѣтопреломленіемъ, это дѣлаетъ ихъ похожими на маленькія песчинки.

Въ этомъ состояніи колоніи совершенно соотвѣтствуютъ описаннымъ зооглеямъ жидкихъ культуръ, и здѣсь особенно легко убѣдиться въ упругости и прочности ихъ строенія. При прикосновеніи къ нимъ остріемъ очень тонкой иголки или, еще лучше, остріемъ нитеобразной капиллярной трубочки, на нихъ не замѣчаешь никакого слѣда укола. Если надавить сильнѣе, то вся колонія вдавливается въ студень не распадаясь, даже не измѣнивъ формы. Не часто удается даже этимъ способомъ отдѣлить отъ колоніи маленькій кусочекъ, нѣсколько клѣточекъ; о чемъ можно судить по тому, что если вымыть конецъ иголки въ подходящей жидкости — или сломать тамъ конецъ стекляной иголки — нитрификаціи не произойдетъ. Это свойство дѣлаетъ такія колоніи совершенно непригодными для изолированія микроба.

Черезъ нѣкоторое время — отъ 10 дней до 2 недѣль — эти характерныя колоніи измѣняютъ свой видъ: вокругъ каждой появляется безцвѣтная, слабо преломляющая свѣтъ, масса то въ формѣ острыхъ и угловатыхъ отростковъ, то въ формѣ закругленныхъ долей, которыя сливаются въ свѣтлый ореолъ вокругъ темнаго ядра остатковъ старой колоніи. Если теперь притронуться къ свѣтлой массѣ иголкой, то оказывается, что она мягка и нѣсколько липка, какъ обыкновенная колонія бактерій. Она состоитъ изъ овальныхъ клѣточекъ, которыя, введенныя въ каплю воды, тотчасъ начинаютъ двигаться; съ перваго взгляда мы узнаемъ монадъ.

И здѣсь способность двигаться сохраняется недолго: введя немножко той же колоніи въ висячую каплю уже на другой день, констатируешь, что подвижность клѣточекъ совершенно прекратилась.

Структура «темныхъ колоній» при большомъ увеличеніи вовсе не отличается отъ структуры зооглей жидкой среды. См. фиг. 8 и 15 (увеличеніе въ 1000 разъ). Что же касается структуры «свѣтлыхъ колоній», сравн. фиг. 5 (увеличеніе въ 500 разъ).

Итакъ мы находимъ и на твердой средѣ оба состоянія, которыя микробъ образуетъ въ растворѣ неорганическихъ солей. Прибавлю, что тѣ же различія и тѣ же неправильности въ смѣнѣ двухъ формъ роста, о которыхъ мы говорили выше, встрѣчаются и тутъ.

Иногда образуется больше «темныхъ колоній», переходъ которыхъ въ «колоніи свѣтлыя» совершается медленно, неполно, а иногда не совершается вовсе; иногда же колоніи еще совсѣмъ молодыя и маленькія переходятъ уже

Digitized by Google

que celles de l'intérieur du milieu deviennent de plus en plus anguleuses (fig. 13); ceci, joint à leur extrême réfringence les fait ressembler à des petits grains de sable.

A cet état les colonies correspondent tout-à-fait à la forme Zooglée des cultures liquides; et ici, il est particulièrement aisé de s'assurer de la solidité et de l'élasticité de leur structure. On a beau les toucher avec la pointe d'une aiguille très-fine, ou mieux encore, avec la pointe rugueuse d'un tube capillaire filiforme, fraîchement étiré et cassé à l'un des bouts, on n'y remarque aucune empreinte. En appuyant plus fortement, toute la colonie s'enfonce dans la gelée, sans se détruire, sans même changer de forme. On ne réussit même pas souvent à en détacher un petit morceau, quelques cellules; car si on lave le bout de l'aiguille dans un liquide approprié — ou si on y casse le bout de l'aiguille de verre — la nitrification n'en résulte pas. Cette qualité rend ces colonies tout-à-fait inaptes pour servir à isoler le microbe.

Après un certain temps, de 10 jours à 2 semaines, on voit ces colonies caractéristiques changer d'aspect: une masse incolore peu réfringente apparait autour de chacune d'elles, tantôt en forme d'excroissances anguleuses et pointues, tantôt en lobes arrondis qui confluent en une auréole claire autour du noyau sombre des restes de la vieille colonie. Si on touche, maintenant, la masse claire avec l'aiguille, on constate qu'elle n'a aucune consistance, qu'elle est molle et un peu visqueuse, comme une colonie bactérienne ordinaire. Elle est formée de cellules ovales qui, aussitôt introduites dans une goutte d'eau, se mettent en mouvement: nous reconnaissons du premier coup d'oeil les monades.

La faculté de se mouvoir ne se conserve pas longtemps ici non plus: en prenant un peu de la même colonie, dans une goutte pendante, on constate déjà le jour suivant que la mobilité des cellules a complètement cessé.

La structure des «colonies sombres» à un fort grossissement est tout-à-fait celle des zooglées du milieu liquide — v. fig. 8 et 15 (grossissement 1000); pour la structure des «colonies claires» comparez fig. 5 (gross. 500).

Ainsi, comme on le voit, les deux états que forme le microbe dans le milieu liquide se retrouvent sur le milieu solide. De plus, on retrouve également, à ce genre de culture, les mêmes différences et les mêmes irrégularités, dont nous avons parlé assez longuement plus haut. Il se forme tantôt plus de «colonies sombres», dont la transformation en «colonies claires» est lente, incomplète ou même nulle; tantôt les colonies, encore toutes jeunes et petites, passent déjà à l'état de «colonies claires» et ne montrent qu'un tout

Digitized by Google

въ состояніе «свѣтлыхъ колоній» и показываютъ лишь совсѣмъ маленькое темное ядро въ центрѣ или на периферіи. Въ обоихъ случаяхъ характеръ культуръ совершенно разный и бактеріологъ, привыкшій придавать большое значеніе виду колоній, какъ діагностическому признаку, конечно распознаетъ бы тутъ два разныхъ организма и ошибся бы.

Почти лишнее прибавлять, что жидкія культуры, въ которыхъ преобладаютъ монады, даютъ на кремнеземѣ свѣтлыя колоніи, тогда какъ культуры, въ которыхъ преобладаютъ зооглеи, образуютъ на кремнеземѣ чаще темныя колоніи.

Мы окончили теперь очеркъ морфологіи одного изъ самыхъ рудиментарныхъ микробовъ, клѣточка котораго мало характерна, который не образуетъ споръ, не растетъ на разнообразныхъ средахъ, и т. д. И тѣмъ не менѣе изслѣдованіе его развитія открыло намъ черты настолько характерныя, что онъ принадлежитъ отнынѣ къ микробамъ, которыхъ очень легко узнать и опредѣлить.

III.

Перейдемъ теперь къ обзору другихъ нитрозныхъ микробовъ, которыхъ мы изолировали изъ образчиковъ земли, полученныхъ нами изъ разныхъ странъ. Мы располагали большимъ выборомъ этихъ образчиковъ во второй половинѣ 1890 года.

Скажу разъ на всегда, что ни въ одной изъ этихъ земель я не могъ констатировать присутствія нѣсколькихъ видовъ нитрозныхъ микробовъ: въ каждой былъ всегда только одинъ видъ съ опредѣленными морфологическими свойствами.

Между образчиками, полученными мною изъ Франціи, я тщательнѣе всего изучилъ одну землю изъ *Gennevilliers*, которой я обязанъ, также какъ и многими другими, любезности г. Дюкло. Я нашелъ тамъ нитрознаго микроба, котораго я призналъ совершенно идентичнымъ съ микробомъ цюрихской земли.

Этимъ заключеніемъ я обязанъ однако только описаннымъ выше наблюденіямъ; они предохранили меня отъ противоположнаго заключенія, которое навязывалось при сравненіи обоихъ микробовъ. Въ самомъ дѣлѣ, въ тотъ періодъ цюрихскій микробъ давалъ въ жидкой средѣ однѣ только зооглеи, необыкновенной величины и компактности; на кремневой студени были однѣ только коричневыя колоніи, даже не окруженныя свѣтлыми массами. Въ культурахъ микроба женевилльерской земли, напротивъ, муть не прекращалась и жидкость кишѣла подвижными монадами; на кремнеземѣ

Digitized by Google

petit noyau sombre à leur centre ou à la périphérie. Dans les deux cas les plaques diffèrent du tout au tout, et un bactériologiste habitué à donner une grande importance à l'aspect des colonies, comme moyen de diagnose, les déclarerait sûrement des cultures d'organismes différents, ce qui serait une erreur.

Il est presque inutile d'ajouter que les cultures liquides à monades donnent sur la silice des colonies claires, tandis que les cultures à zooglées forment plutôt des colonies sombres.

Nous avons terminé maintenant la morphologie d'un microbe des plus rudimentaires, dont la cellule est peu caractéristique, qui ne forme pas de spores, ne croît pas sur des milieux variés, etc. Et pourtant, l'observation de son développement nous a révélé des traits si caractéristiques, qu'il appartient désormais aux microbes les plus faciles à reconnaître qui existent.

III.

Nous allons, maintenant, passer en revue les autres microbes nitreux que nous avons isolés des échantillons de terre de différentes provenances, dont nous possédions un grand choix vers la fin de 1890.

Dans aucune de ces terres, je le dirai une fois pour toutes, on n'a constaté la présence de plusieurs espèces de microbes nitreux: il n'y avait toujours qu'une seule espèce de cette fonction.

Parmi les échantillons que j'ai reçus de France, j'ai étudié, le plus soigneusement, une terre de *Gennevilliers,* que je dois, ainsi que plusieurs autres, à l'obligeance de M. Duclaux. Elle contenait un microbe nitreux que j'ai reconnu comme tout-à-fait identique au microbe de Zurich.

Mais, ce sont les notions par moi acquises sur l'histoire morphologique de l'espèce, qui m'ont préservé de la conclusion contraire, qui eut été une erreur. En effet, à ce temps quand je comparais les deux microbes, celui de Zurich ne donnait dans ces cultures liquides rien que des zooglées d'une grandeur et d'une compacité extraordinaires; sur le milieu solide, il n'y avait que des colonies brunes, qui ne s'entouraient même pas de masses claires. Dans les cultures du microbe de Gennevilliers, par contre, le trouble ne cessait pas et le liquide pullulait de monades mobiles; sur la silice, il n'y avait que des colonies incolores et à faibles contours, composées de cellules non cimentées et très-souvent capables de mouvement.

Il est inutile de répéter que ces différences ne peuvent pas servir à

Digitized by Google

были только безцвѣтныя колоніи, состоявшія изъ не цементированныхъ между собою и очень часто способныхъ къ движенію клѣточекъ.

Безполезно повторять, что эти различія не могутъ служить къ различенію видовъ. Они не постоянны и одинъ и тотъ же видъ представляетъ ихъ періодически.

Съ тѣхъ поръ я еще разъ имѣлъ случай провѣрить этотъ выводъ: организмъ женевилльерской земли образуетъ теперь гораздо больше зооглей, и хотя этотъ характеръ роста еще не представляетъ у него той исключительности, какая замѣчалась у другаго, тѣмъ не менѣе онъ вполнѣ типиченъ. Что касается формы отдѣльной клѣточки микроба женевилльерской земли, сравн. фотогр. № 3 съ фотограммою № 1. Первая изображаетъ женевилльерскій организмъ изъ культуры на кремнеземѣ, вторая — цюрихскій организмъ изъ минеральнаго раствора. Какъ можно видѣть, форма и величина клѣтокъ почти совершенно одинаковы. Маленькая разница, которую можно замѣтить, присматриваясь, объясняется разными способами окрашиванія: препаратъ фотогр. № 3 былъ сдѣланъ по способу г. Лефлера (ферро-таннатъ, фуксинъ), при которомъ клѣточки кажутся обыкновенно нѣсколько болѣе массивными.

Такъ какъ можно было ожидать, что этотъ же микробъ распространенъ по всему западу Европы, то я изслѣдовалъ затѣмъ изъ европейскихъ земель только нѣкоторыя русскія земли. Для изолированія микроба я выбралъ *казанскую* землю[1]).

Культура этого микроба была начата въ январѣ 1890 года и ведена болѣе года въ совершенно тѣхъ же условіяхъ, какъ и другія. Единственная разница, которую я констатировалъ между этимъ и западнымъ микробомъ, состояла въ величинѣ клѣтокъ: казанскій организмъ достигаетъ только $^1/_2$ или $^2/_3$ величины другаго, будучи совершенно схожъ съ нимъ по формѣ (сравн. фотогр. № 4 и фотогр. № 3, которыя были сдѣланы при одинаковомъ, тщательно провѣренномъ увеличеніи въ 1,000 разъ). Но этотъ отличительный признакъ, какъ ни незначителенъ онъ можетъ показаться, оказался безусловно постояннымъ въ теченіе всего періода наблюденія. Что касается до другихъ свойствъ казанскаго микроба: образованія зооглей, подвижныхъ монадъ, внѣшняго вида культуръ, и т. д., то они совершенно тѣ же, что и у большой формы. Только постоянный признакъ меньшей величины не позволяетъ признать оба организма идентичными. Мы признаемъ оба организма мѣстными разновидностями одного и того же вида.

---

1) Образчикъ былъ мнѣ любезно присланъ г. Ротертъ.

Digitized by Google

distinguer des espèces. Elles sont inconstantes, et la même espèce les présente par périodes.

Depuis, j'ai eu encore l'occasion de vérifier la conclusion ci-dessus: le ferment de Gennevilliers forme maintenant beaucoup plus de zooglées, et quoique ce mode de végétation n'a pas encore atteint chez lui un caractère si exagéré que chez l'autre, il n'en est pas moins typique.

Quant à la forme de la cellule du microbe de Gennevilliers, comparez le photogr. № 3 avec le photogr. № 1. Le premier présente le ferment de Gennevilliers, cultivé sur silice, le second celui de Zurich, provenant d'une culture en milieu liquide ordinaire. On voit que la forme et la grandeur des cellules sont sensiblement les mêmes. La petite différence de taille qu'on remarque en regardant bien, s'explique par les procédés différents de coloration: la préparation du photogr. № 3 a été faite par la méthode Loeffler (ferrotannate — fuchsine), après laquelle les cellules paraissent d'ordinaire plus massives.

Comme on pouvait s'attendre que le même microbe fut répandu dans tout l'ouest de l'Europe, je n'ai examiné ensuite, en fait de terres européennes, que quelques terres russes. J'ai choisi, pour en isoler le microbe, la terre de *Kazan*[1]).

Sa culture a été commencée en Janvier 1890 et menée plus d'un an exactement dans les mêmes conditions que les autres. La seule différence qu'on a constatée entre ce microbe et celui de l'ouest consistait dans la grandeur des cellules: le ferment de Kazan n'atteint qu'une $^1/_2$ à $^2/_3$ de l'autre, lui étant tout-à-fait semblable par sa forme (comparez le photogr. n° 4 avec le photogr. № 3, qui ont été faits tous les deux au grossissement soigneusement contrôlé de 1000). Mais ce caractère distinctif, quelque insignifiant qu'il puisse paraître, s'est montré comme absolument constant, pendant toute la période d'observation. Quant à ses autres caractères: formation de zooglées, de monades mobiles, aspect extérieur des cultures, etc., ils sont absolument les mêmes que chez la grande forme. Il n'y a que le caractère constant de la petite taille qui ne permet pas de reconnaître les deux organismes comme identiques. Nous classerons le petit microbe comme une variété locale de la même espèce.

Je n'insisterai pas sur les autres échantillons étudiés de terres d'Europe, qui ont présenté peu de nouveau.

J'ai eu, pendant ces expériences, pleinement l'occasion de constater quel

1) Je dois l'échantillon à l'obligeance de M. Rothert.

Digitized by Google

Не буду останавливаться на другихъ образчикахъ европейскихъ земель, изученныхъ мною, которые представили мало новаго.

Занимаясь этими опытами, я убѣдился, какое прекрасное средство для діагноза микроба даетъ въ руки знаніе его зооглей. Его узнаешь съ перваго взгляда въ любой случайной смѣси микробовъ, введенныхъ въ минеральный растворъ съ посѣвной землей.

IV.

Чтобы рѣшить вопросъ, существуетъ ли нѣсколько видовъ нитрозныхъ микробовъ, или же область распространенія единственнаго извѣстнаго вида неограниченна, изученіе образчиковъ экзотическихъ земель представляло очевидно гораздо болѣе интереса. Я имѣлъ въ распоряженіи достаточное количество ихъ, присланныхъ изъ Африки (Тунисъ, Алжиръ), изъ Азіи (Ява, Японія), изъ Южной Америки (Бразилія, Эквадоръ), наконецъ, изъ Австраліи (Мельбурнъ).

Больше всего я занимался маленькимъ нитрознымъ микробомъ, котораго я изолировалъ изъ земли *Байтенцорга* на Явѣ[1]). Первые образчики я получилъ въ мартѣ 1890 года. Я немедленно изолировалъ микроба и до сихъ поръ культивирую его въ чистотѣ. Въ новыхъ образчикахъ, полученныхъ осенью 1891 года, я нашелъ тотъ же видъ.

Общій характеръ его развитія тотъ же, что и у европейскаго вида. Легко найти у яванскаго микроба тѣ же два состоянія — *monas* и *zoogloea*. Можно даже полагать, что образованіе ихъ болѣе правильно и постоянно, такъ какъ ихъ чаще приходится наблюдать рядомъ другъ около друга. Но неправильности тоже не рѣдки и онѣ совершенно въ томъ же родѣ, какъ описано было выше.

Но рядомъ съ этими общими чертами есть и другія, которыя хорошо отличаютъ его отъ всякаго другаго сроднаго микроба.

Его зооглеи имѣютъ очень компактное строеніе и часто невозможно никакими средствами различить въ нихъ отдѣльныя клѣточки. Но если удастся захватить зооглеи въ тотъ моментъ, когда начинается распаденіе ихъ, картина тогда очень ясная. Тогда видишь, что однѣ изъ нихъ состоятъ изъ очень маленькихъ микрококковъ, другія — изъ тѣлецъ бо́льшей величины, круглыхъ или неправильныхъ по формѣ. Эти послѣднія тѣла — сами не что иное, какъ маленькія колоніи. Итакъ, зооглеи представляютъ тутъ сложныя колоніи, подобно тѣмъ, которыя наблюдаются у нѣкоторыхъ одноклѣточныхъ водорослей, какъ *Gloecystis*, *Gloecapsa* и др.

---

1) Я очень благодаренъ г. Трейбъ, директору ботаническаго сада въ Байтенцоргѣ, за его многочисленныя присылки.

Digitized by Google

moyen sûr de reconnaître le microbe donne la connaissance de ses zooglées. Il n'est guère nécessaire de l'isoler pour l'identifier; on le reconnait du premier coup d'oeil, dans un mélange de microbes quelconques, introduits dans la solution minérale avec la terre d'ensemencement.

IV.

Pour résoudre la question de savoir s'il existe plusieurs espèces de microbes nitreux où l'aire de l'espèce connue est illimité, l'étude d'échantillons de terres exotiques présentait évidemment plus d'intérêt. J'en ai eu un assez grand nombre à ma disposition, provenant de l'Afrique (Tunis, Algérie), de l'Asie (Java, Japon), de l'Amérique du Sud (Brésil, Equateur) enfin de l'Australie (Melbourne).

Je me suis occupé, surtout, du petit microbe nitreux que j'ai isolé de la terre de *Buitenzorg* à Java[1]). Les premiers échantillons me sont parvenus en Mars 1890. J'ai immédiatement isolé le microbe, et je le cultive jusqu'à présent à l'état de pureté. Dans plusieurs échantillons reçus en automne 1891, j'ai retrouvé le même microbe.

Le caractère général de son développement est le même que chez l'espèce européenne. Rien de plus facile que de retrouver chez le microbe javanais ces deux mêmes états — *zoogloea* et *monas*. On dirait même que leur formation est plus régulière, car on les observe plus souvent l'un près de l'autre. Mais les irrégularités ne sont pas très-rares également, et elles sont tout-à-fait dans le genre de celles qui ont été décrites pour le microbe européen avec toutes les gradations possibles.

Mais à côté de ces traits communs, on en trouve d'autres qui le différencient bien de tout autre microbe nitreux.

Les zooglées ont une structure extrêmement compacte, et il est souvent impossible d'y distinguer les cellules, par quelque moyen que ce soit. Mais si on a la chance de les voir au moment où commence leur dissolution, le tableau microscopique est très-instructif. Elles se montrent alors composées les unes de très-petits micrococques, les autres — de corps plus grands, ronds ou irréguliers de forme. Ces derniers ne sont rien autre que des petites colonies elles-mêmes. Les grandes zooglées sont donc des colonies composées, comme celles qu'on observe chez plusieurs algues unicellulaires, *Gloeocystis*, *Gloeocapsa* et autres.

1) Je suis très-reconnaissant à M. Treub, l'éminent directeur du Jardin botanique de Buitenzorg, pour ses nombreux envois.

Digitized by Google

Распаденіе зооглей происходитъ различнымъ образомъ: иногда оно идетъ отъ периферіи къ центру, иногда, повидимому, начинается въ центрѣ. Въ послѣднемъ случаѣ зооглеи имѣютъ видъ полыхъ тѣлъ, или колецъ, какъ видно на фотогр. № 11.

Въ подвижномъ состояніи клѣточки (фиг. 9, 10) не всегда изолированы, но остаются соединенными въ маленькія колоніи, которыя катятся въ жидкости. Не рѣдко маленькія подвижныя колоніи преобладаютъ. Эти группы образованы изъ 3—4 и болѣе клѣточекъ, которыя часто расположены какъ углы тетраэдра или иначе, образуя часто совсѣмъ не симметричныя тѣла (см. фиг. № 9 слѣва).

Рѣснички, которыми обладаютъ подвижныя стадіи этого маленькаго микроба, несоразмѣрно длинны: самъ коккъ едва достигаетъ 0,5—0,6 μ, а придатокъ, при посредствѣ котораго онъ движется, превышаетъ 30 μ. Рѣсницы окрашиваются только по способу Лефлера, и окрашиваніе получается очень интенсивное и яркое, если дѣлать такъ: высушить на покровномъ стеклышкѣ каплю мутной жидкости, нагрѣть въ очень концентрированномъ растворѣ ферро-танната, съ прибавленіемъ 8 капель 1% раствора ѣдкаго натра на 10 к. с.; затѣмъ промыть горячей водой (въ 50°) и—очень быстро — алкоголемъ съ прибавленіемъ нѣсколькихъ капель того же раствора ѣдкаго натра (3 капли на 2—3 к. с.); затѣмъ окрасить растворомъ фуксина на анилиновой водѣ. Рѣснички вдругъ становятся видны очень интенсивно окрашенными, когда послѣ нѣсколькихъ пробъ, наконецъ нападаешь на подходящій составъ красящихъ жидкостей. Картина получается очень оригинальная, и съ перваго взляду можно подумать, что имѣешь передъ собой культуру спирохетъ.

Не смотря, а можетъ быть именно вслѣдствіе такихъ длинныхъ рѣсницъ, кокки вовсе не очень энергично подвижны. Они подвигаются очень медленно, описывая сильно волнистую или скорѣе спиральную линію съ широкими оборотами; совсѣмъ иначе европейскія монады, которыя при помощи своихъ короткихъ рѣсничекъ движутся очень быстро.

Что касается до формы клѣточекъ, то ихъ можно считать *кокками*, хотя ихъ форма никогда не бываетъ правильной сферой. Она всегда угловата и представляется въ оптическомъ разрѣзѣ то прямоугольникомъ, то треугольникомъ, то трапеціей, и т. д. Форма клѣточекъ видна лучше всего, если наблюдать этихъ микробовъ живыми въ висячей каплѣ. Вообще тогда, вслѣдствіе своей неправильной формы, слабаго свѣтопреломленія и неопредѣленнаго контура, микробы эти имѣютъ очень характерный видъ. Высушиваніе и окрашиваніе, особенно при употребленіи способа Лефлера, заставляетъ ихъ казаться круглыми.

Digitized by Google

La désagrégation se fait de différentes manières: tantôt elle va de la périphérie au centre, tantôt elle parait commencer au centre. Les zooglées ont alors l'air de corps creux ou d'anneaux comme celles du photogr. № 11.

A l'état mobile, les cellules (fig. 9, 10) ne sont pas toujours isolées, mais restent réunies en petites colonies mobiles qui roulent dans le liquide. Il n'est pas rare que les petites colonies mobiles prédominent.

Ces groupes sont formés de 3—4 cellules et plus, disposées souvent comme les angles d'un tetraèdre, mais aussi d'une manière tout-à-fait asymétrique (voir fig. 9 à gauche).

Les cils, que possèdent les stades mobiles de ce tout petit microbe, sont d'une longneur vraiment démesurée. Le coccus lui-même atteint à peine 0,5—0,6 μ et il porte un flagelle qui dépasse 30 μ. Les flagelles ne se colorent que par la méthode Loeffler, et la coloration est très-intense et belle, si on procède comme suit: on sèche sur la lamelle une goutte du liquide trouble, on chauffe dans une solution très-concentrée de ferro-tannate, additionnée de 8 gouttes de solution de soude (à 1 p. c.) pour 10 c. c.; puis, on lave avec de l'eau chaude à 50°, et ensuite rapidement, avec de l'alcool additionné de quelques gouttes de la même solution de soude (3 gouttes pour 2—3 c. c.); on colore ensuite avec de la fuchsine à l'eau anilinée. Les cils apparaissent tout-à-coup et très-intensement colorés, quand on approche, par tâtonnement, de la composition favorable du liquide servant de mordant. Le coup d'oeil est étrange: on dirait une culture de spirochètes.

Malgré, ou peut-être à cause de la longeur des flagelles, les coccus ne sont pas très-agiles. On les voit avancer très-lentement, en décrivant une ligne fortement ondulée ou plutôt une spirale à larges tours. C'est tout le contraire de la monade européenne qui, avec son cil très-court, avance très-rapidement.

Quant à la forme de leurs cellules, on peut, à la rigueur, les appeler des *coccus*, quoique leur forme ne soit jamais une sphère régulière. Elle est toujours anguleuse et se présente en coupe optique comme un rectangle, un triangle, un trapèze, etc.; on la distingue le mieux, quand on les observe les cellules à l'état vivant, dans une goutte pendante, et cette forme inusitée, jointe à leur faible réfringence, leur contour indécis, leur donne un air très-caractéristique. La dessiccation et la coloration, surtout avec l'emploi de mordant, les fait paraître plutôt rondes.

Mais il faut dire, qu'il est ici très-difficile de se rendre compte de la forme de la cellule isolée, car on ne peut jamais être sûr qu'on n'en a

Digitized by Google

Но надо сказать, что здѣсь очень трудно отдать себѣ отчетъ въ формѣ отдѣльной клѣточки, потому что никогда нельзя быть увѣреннымъ, что имѣешь передъ собою дѣйствительно отдѣльную клѣточку, а не маленькую группу. Смыслъ только что сказаннаго станетъ яснѣе, если только вглядѣться внимательно въ фотогр. № 12. Всѣ эти разнообразной формы тѣльца, которыхъ тамъ видишь, за исключеніемъ очень немногихъ представляютъ уже не отдѣльныя клѣточки, а маленькія колоніи. Форма ихъ, какъ видно на рисункѣ, очень неправильна, а структура такъ компактна, что никакими средствами не удается различить количество и форму клѣточекъ, составляющихъ ихъ.

Я много разъ культивировалъ этотъ организмъ на кремнеземѣ, гдѣ онъ растетъ совершенно какъ европейскій видъ. Различія лишь второстепенныя: «темныя колоніи» его имѣютъ болѣе свѣтлую буро-желтую окраску или цвѣтъ кофе съ молокомъ. Строеніе ихъ кажется гомогеннымъ (при увеличеніи въ 100) вмѣсто того чтобы быть зернистымъ какъ у европейскаго вида. Превращаясь въ «свѣтлыя колоніи», онѣ даютъ угловатыя, очень причудливыя формы, рисунокъ которыхъ я къ сожалѣнію не могу приложить.

Я не нашелъ этого-же самаго микроба въ двухъ образчикахъ, полученныхъ мною изъ *Токіо* (*Японія*)[1]). Они дали культуры микроба, овальнаго какъ Цюрихскій, но быть можетъ нѣсколько мѐньшей величины. Образованіе круглыхъ зооглей съ ясно видной оболочкой было констатировано нѣсколько разъ.

Четыре образчика изъ *сѣверной Африки*[2]) содержали микроба, клѣтки котораго имѣли ту-же форму, но величина ихъ была несомнѣнно меньше величины европейскаго микроба. Я долго не могъ найти въ культурахъ, полученныхъ изъ двухъ этихъ земель — *La Reghaïa* и *Tunis*, свободныхъ и подвижныхъ клѣтокъ, монадъ. Жидкость оставалась прозрачной и не содержала ничего кромѣ круглыхъ, очень характерныхъ зооглей. Любопытно, что нитрификація во всѣхъ четырехъ африканскихъ серіяхъ постоянно оставалась очень вялой. Различіе между этими культурами и европейскими было очень рѣзко, о чемъ я уже имѣлъ случай упомянуть въ своемъ пятомъ сообщеніи о нитрификаціи. То-же количество аммонія требовало здѣсь въ 2—3 раза больше времени для окисленія. Я былъ убѣжденъ въ то время, что имѣю дѣло съ другимъ видомъ микроба, не образующимъ монадъ и обладающимъ очень слабой нитрифицирующей способностью. Но теперь я думаю, что медленное дѣйствіе должно быть приписано упорно зооглеическому характеру роста въ періодѣ наблюденія. Что касается монадъ,

1) Я обязанъ ими любезности профессора Шульце въ Цюрихѣ и его корреспондента.
2) Я обязанъ ими любезности г. Дюкло и его корреспондентовъ.

Digitized by Google

qu'une seule devant soi, et non tout un petit groupe. On n'a qu'à examiner attentivement le photogr. № 12. Tous les corpuscules variés qu'on y voit, sauf peut-être quelques uns des plus petits d'entre eux, ne présentent pas des cellules isolées, mais déjà des petites colonies. Leur forme est, comme on le voit, très-irrégulière, et leur structure si compacte qu'on ne parvient souvent, par aucun moyen, à distinguer la quantité et la forme des cellules qui les composent.

J'ai beaucoup cultivé cet organisme sur le milieu solide, où il se comporte de même manière que l'espèce européenne. Les différences sont de nature secondaire: ses «colonies sombres» ont une couleur plus claire, jaune-brun ou café au lait. Leur structure parait homogène à un grossissement de 100, au lieu d'être granuleuse comme celle de l'autre espèce. En se transformant en «colonies claires», elles montrent des formes anguleuses très-tourmentées, dont j'ai malheureusement omis de faire reproduire le dessin.

Je n'ai pas retrouvé le même microbe dans les deux échantillons que j'ai reçu de *Tokio*[1]) (Japon). Ils ont donné des cultures d'un microbe ovale comme celui de Zurich, mais peut-être un peu plus petit. La formation de belles zooglées rondes à membrane bien visible a été plusieurs fois constatée.

Les terres d'Afrique, dont j'ai eu 4 échantillons[2]) contenaient aussi un microbe dont les cellules avaient la même forme. Leur taille était décidément plus petite, que celle du microbe européen. Il m'a été très-longtemps impossible de trouver dans les cultures provenant de deux de ces terres — *La Reghaïa* et *Tunis* — des cellules libres et mobiles, des monades. Le liquide restait toujours clair et il n'y avait rien autre chose que des zooglées rondes très-caractéristiques, sans tendance à se désagréger. Il est curieux de noter que la nitrification, dans toutes ces quatre séries d'Afrique, s'est maintenue constamment très-peu énergique. La différence entre ces cultures et les séries européennes était même très-frappante, ainsi que j'ai eu déjà l'occasion de le mentionner dans mon 5-me mémoire sur la nitrification. La même quantité d'ammoniaque exigeait ici 2 à 3 fois plus de temps. J'ai cru alors avoir affaire sûrement à une autre espèce de microbe, ne donnant pas de monades et à pouvoir nitrifiant très-faible. Mais maintenant, je crois que l'action lente doit être attribuée au caractère zoogléique persistant de la végétation à cette période. Et quant aux monades, j'ai eu tout récemment

1) Dus à l'obligeance de M. le Professeur E. Schulze à Zurich et à son correspondant.
2) Je les dois à l'obligeance de M. Duclaux et de ses correspondants.

Digitized by Google

то въ послѣднее время я имѣлъ случай констатировать несомнѣнное присутствіе и подвижность ихъ въ одной культурѣ, происходящей изъ тунисской земли; жидкость очень слабо опалесцировала и содержала относительно очень мало подвижныхъ клѣтокъ, но фактъ тѣмъ не менѣе былъ на лицо. Итакъ, слѣдуетъ допустить, что нитрозный микробъ африканскихъ земель есть только мѣстная разновидность европейскаго вида.

Изученіе нѣсколькихъ *земель Новаго Свѣта* (*Южн. Америки*, *Австраліи*) обнаружило мнѣ существованіе нитрознаго микроба, на столько отличнаго отъ до сихъ поръ описанныхъ, что трудно было-бы отнести его къ тому-же роду, какъ предъидущіе. Къ несчастію, эти наблюденія должны были остаться не вполнѣ законченными, а теперь я не имѣю болѣе ни его культуръ, ни земли присланной изъ этихъ странъ. Мнѣ оставалось еще выяснить нѣсколько пунктовъ въ морфологіи этой новой маленькой группы; каждый можетъ теперь сдѣлать это и провѣрить то, что будетъ сказано въ слѣдующихъ строкахъ.

Въ культурахъ земли *Квито*[1]), которыя я велъ почти цѣлый годъ, и изъ которыхъ изолировалъ микроба посредствомъ культуры на кремнеземѣ, я постоянно находилъ большихъ кокковъ, фотографію которыхъ я далъ въ *Ann. de l'Institut Pasteur* № 9, 1891 года. Величина ихъ 1,5—1,7 μ въ діаметрѣ; они кажутся всегда большей величины живыми, чѣмъ въ окрашенномъ видѣ; очевидно, они обладаютъ студенистой оболочкой, довольно толстой, которая не окрашивается и становится невидимой послѣ высушиванія. Никогда въ его культурахъ не находилъ я зооглей, подобныхъ тѣмъ, которыя образуютъ вышеописанные микробы. Я не могу дать окончательнаго отвѣта на вопросъ, подвижны-ли эти *мегалококки*. Нѣсколько разъ наблюдалъ я въ 8—10-дневныхъ культурахъ очень ясно выраженную муть. Въ висячей каплѣ жидкость оказывалась населенною взвѣшенными въ ней кокками; но ни одинъ изъ нихъ не обнаруживалъ достаточно ясной подвижности, чтобы считать ее активной.

Микробъ, въ культурахъ на кремнеземѣ, образуетъ большія красивыя колоніи. Здѣсь болѣе нѣтъ тѣхъ двухъ видовъ колоній, темныхъ и свѣтлыхъ, которыя свойственны европейскому микробу. Колоніи на поверхности имѣютъ видъ капелекъ мутной и желтоватой жидкости. Уже при слабомъ увеличеніи онѣ имѣютъ зернистый видъ, потому что отдѣльные кокки легко различаются уже при увеличеніи въ 100 разъ. Даже внутри относительно твердаго студня колоніи имѣютъ эту жидкую консистенцію и состоятъ изъ совершенно свободныхъ клѣточекъ.

---

1) Я обязанъ ею любезности профессора Крамера въ Цюрихѣ и г. Лагергейма въ Квито.

Digitized by Google

l'occasion de constater, avec sûreté, leur présence et leur mobilité, dans une culture *Tunis*; le liquide n'était que faiblement opalescent et ne contenait que relativement peu de cellules mobiles, mais le fait n'en était pas moins réel. Il faut donc admettre que le microbe nitreux des terres africaines n'est probablement qu'une variété locale de l'espèce européenne.

L'étude de quelques *terres du nouveau monde* (*Amérique du Sud, Australie*) m'a révélé l'existence d'une microbe nitreux, si différent de ceux dont nous avons parlé jusqu'à présent, qu'il serait difficile de le classer dans le même genre. Malheureusement, ces observations ont dû être interrompues, et je ne possède plus ni de culture, ni de terre de cette provenance. Il restait encore quelques points à éclaircir dans la morphologie de ce nouveau petit groupe. Chacun est en état de le faire et de vérifier ce qu'on trouvera dans les lignes suivantes.

Dans les cultures de la terre *Quito*[1]) que j'ai menées plus d'un an et dont j'ai isolé le microbe par culture sur silice, je n'ai jamais trouvé que des grands coccus, dont j'ai donné la photographie dans les *Ann. de l'Institut Pasteur* № 9, 1891. Leur diamètre est de 1,5—1,7 μ. Ils paraissent toujours plus grands à l'état vivant et non colorés; ils ont évidemment une membrane gélatineuse assez épaisse, qui ne se colore pas, et devient invisible après dessiccation. Jamais je n'ai trouvé, dans ces cultures, des zooglées comme celles que forment les microbes ci-dessus décrits. Je ne puis dire définitivement si ces *mégalococcus* sont mobiles. J'ai observé plusieurs fois dans les cultures âgées de 8—10 jours un trouble très-prononcé. En goutte pendante, le liquide se montrait comme peuplé de ces coccus en suspension, mais aucun ne laissait voir de mobilité assez marquée pour la croire active.

Le microbe cultivé sur silice, y formait de grandes et belles colonies. Ici, on ne trouve plus rien de ces deux genres de colonies, sombres et claires, qui sont propres au microbe européen. Les colonies de surface ont l'aspect de gouttelettes d'un liquide trouble et jaunâtre. A un faible grossissement, elles ont déjà un aspect granuleux ou perlé, car on distingue les coccus à un grossissement de 100. Même à l'intérieur d'une gelée relativement dure, les colonies ont cette consistance liquide et sont composées de cellules libres.

---

1) Je la dois à l'obligeance de M. le Professeur Cramer à Zurich et de M. de Lagerheim à Quito.

Digitized by Google

Первые образчики, полученные мною изъ *Кампинасъ*[1]) (Бразилія) въ видѣ совершенно сухаго порошка, не дали мнѣ культуръ. Изъ слѣдующихъ образчиковъ я изолировалъ кокка, который кажется мнѣ самымъ большимъ изъ всѣхъ нитрифицирующихъ организмовъ. Діаметръ его достигаетъ 2 μ. Во всѣхъ другихъ отношеніяхъ описаніе его было-бы повтореніемъ описанія микроба изъ Квито. Любопытно, что въ культурахъ его мнѣ пришлось наблюдать муть при отсутствіи ясно выраженной подвижности клѣтокъ такъ же часто какъ и въ культурахъ предъидущаго микроба[1]).

Организмъ *Мельбурнской земли*, при культурѣ въ жидкой и твердой средѣ, не обнаруживалъ никакой разницы съ 2 предъидущими организмами. Быть можетъ, онъ былъ нѣсколько меньше размѣрами.

Изъ этого короткаго обзора всѣхъ нитрозныхъ микробовъ, которыхъ я изучилъ, видно, что мнѣніе, которое составилось о существованіи одного единственнаго вида, имѣющаго функцію окислять амміакъ, не выдерживаетъ критики: такихъ организмовъ нѣсколько. Я думаю, всѣ согласятся, что различіе между морфологическими свойствами микробовъ Стараго и Новаго Свѣта настолько значительно, что нельзя ихъ отнести даже къ одному роду: придется различить два рода съ нѣсколькими видами.

Смыслъ этого результата можетъ показаться неяснымъ, потому что новыя данныя о питаніи этихъ микробовъ заставляли предполагать, что никакое естественное препятствіе не мѣшаетъ ихъ свободному распространенію въ почвѣ и водахъ. Повидимому это не такъ.

Насколько я знаю, не существуетъ указаній, содержитъ-ли морская вода нитрозныхъ микробовъ вдали отъ береговъ.

---

1) Выражаю благодарность г. Кавальканти, директору агрономической станціи въ Кампинасъ, за его многочисленныя присылки.

1) Не могу не описать въ нѣсколькихъ словахъ новаго наблюденія, которое я имѣлъ случай сдѣлать при изученіи этого микроба. Но я помѣщаю это наблюденіе въ примѣчаніи внизу страницы, потому что оно осталось единичнымъ, и потому что трудно еще оцѣнить его значеніе какъ морфологическаго признака. Я замѣтилъ, что эти кокки образуютъ иногда слой клѣтокъ, въ которомъ послѣднія не соприкасаются, но точно фиксированы въ опредѣленныхъ разстояніяхъ другъ отъ друга, а именно въ разстояніяхъ отъ одного до двухъ діаметровъ клѣтки. Окрашивая по методу Лёфлера (я прибавлялъ къ ферро-таннату 30 капель раствора ѣдкаго натра, окрашивая гентіаной, а затѣмъ фуксиномъ), я получилъ картину нѣсколько неожиданную. Полную идею о ней можно получить, представивъ себѣ сѣть, въ которой кокки играли-бы роль большихъ узловъ. Ясность и относительная правильность сѣти не оставляли никакихъ сомнѣній относительно того, что это былъ никакъ не одинъ изъ тѣхъ разнообразныхъ осадковъ, которые такъ часто покрываютъ покровное стеклышко при окрашиваніи по способу Лёфлера. Отдѣльныя клѣточки также были окружены расходящимися лучами нитей. Эти послѣднія отнюдь не имѣли вида рѣсницъ (органовъ движенія). Итакъ, очевидно существуютъ «зооглеи», клѣточки которыхъ связаны не аморфнымъ студенистымъ веществомъ, а иначе. Надо-ли видѣть здѣсь особенность, свойственную только этому микробу, или-же ею обладаютъ многіе? Пока ничего на этотъ вопросъ не могу отвѣтить. — При случаѣ, я обнародую фотографію, которая была снята съ этихъ препаратовъ.

Digitized by Google

Les premiers échantillons que j'ai reçus de *Campinas* [1]) (Brésil) tout-à-fait secs et réduits en poudre ne m'ont pas donné de culture. J'ai isolé des envois suivants un *mégalococcus*, qui me parait le plus grand de tous les organismes nitrificateurs. Son diamètre atteint 2 μ. A tout autre point le décrire, serait répéter la description du microbe de Quito. Il est curieux que le trouble du liquide, sans mobilité accusée des cellules, a été noté dans ces cultures, autant de fois que dans les cultures du microbe précédent [2]).

L'organisme de la terre de *Melbourne*, cultivé sur milieu liquide et solide, n'a laissé reconnaître aucune différence des deux organismes précédents. Peut-être était-il un peu plus petit.

On voit, d'après cette courte revue de tous les microbes nitreux que j'ai étudiés, que l'opinion qu'on a paru se faire sur l'existence d'une espèce naturelle unique ayant fonction d'oxyder l'ammoniaque n'est pas soutenable. Il y en a plusieurs. Et je crois qu'on sera d'accord que la différence entre les caractères morphologiques des microbes du vieux monde et du nouveau monde est trop accentuée, pour qu'on puisse les classer dans un genre. Il faudra distinguer 2 genres et quelques espèces.

Ce résultat pourra paraître difficile à comprendre, car après les notions acquises sur la nutrition de ces microbes, on croirait plutôt qu'aucun obstacle naturel ne s'oppose à leur diffusion dans le sol et dans les eaux. Evidemment ils n'en est pas ainsi.

Il n'existe pas, à ce que je sache, d'indications si l'eau de mer, puisée loin de la terre, contient des microbes nitrificateurs. Quant à leur propaga-

---

1) Je remercie M. Cavalcanti, le directeur de la station agronomique de *Campinas*, pour ses nombreux envois.

2) Je ne puis me dispenser de décrire en quelques mots une observation nouvelle que j'ai eu l'occasion de faire sur ce microbe, mais je la relègue dans une note au bas de la page, car elle est restée unique, et son importance, comme caractère morphologique, est difficile à apprécier. J'ai remarqué que ces coccus se tiennent quelquefois. en formant une couche, dans laquelle les cellules ne se touchent pas, mais sont espacées de la distance d'un ou deux diamètres et fixées dans leur position. En colorant par la méthode Loeffler (j'ajoutais au ferrotannate 30 gouttes de la solution de soude, le colorant était la gentiane et la fuchsine, l'une après l'autre), je vis une image encore nouvelle en bactériologie. On en aura une idée complète, si on se figure un filet, dont les coccus seraient les très-grands noeuds. La netteté et la régularité relative du filet ne laissaient aucun doute qu'on n'avait pas devant soi un de ces précipités variés, qui couvrent, si souvent, la lamelle, à la suite de ce procédé de coloration. Les cellules isolées étaient également entourées d'un rayonnement de fils. Ceux-ci n'avaient pas du tout l'air de flagelles. Il existe donc des «zooglées» dont les cellules sont liées autrement que par une substance glutineuse amorphe. Faut-il voir ici un caractère particulier de ce microbe ou plusieurs microbes différents les possèdent-ils? On ne saurait y répondre. A une autre occasion je publierai une photographie de ces préparations.

Digitized by Google

Что касается до ихъ распространенія другими путями, то оно должно быть довольно ограниченнымъ, потому что организмы эти очень чувствительны къ высушиванію.

Я сдѣлалъ нѣсколько опытовъ въ этомъ направленіи. Предполагая, что зооглеи должны лучше выносить высушиваніе, чему есть много примѣровъ между водорослями, я производилъ отдѣльные опыты съ одной стороны надъ очень типичными зооглеями (съ толстыми оболочками), съ другой — надъ монадами. Довольно большія количества, высушенныя на пластинкахъ слюды, сохранялись 10 дней въ эксикаторѣ съ хлористымъ кальціемъ, въ темнотѣ, и затѣмъ ихъ бросали въ обыкновенный амміачный растворъ. Нитрификаціи не произошло. Но послѣ высушиванія въ теченіи сутокъ на воздухѣ, зооглеи нитрифицировали, а монады — нѣтъ.

Совершенно сухая, разсыпающаяся въ пыль земля не содержитъ нитрозныхъ микробовъ, способныхъ къ развитію. Земли, которыя кажутся сухими, но которыя еще комковаты, содержатъ ихъ мало: часто надо засѣвать для положительнаго результата довольно большое количество такой земли и всегда тѣмъ больше, чѣмъ долѣе длилось состояніе сухости. Въ воздухѣ живыхъ нитрозныхъ микробовъ нѣтъ, судя по тому, что я никогда не наблюдалъ самопроизвольной нитрификаціи въ лабораторіи.

Въ вопросѣ о распространеніи нитрозныхъ микробовъ надо еще принимать во вниманіе, что, живя въ различныхъ почвахъ и климатахъ, извѣстные виды должны были выработать извѣстныя приспособленія къ чисто физическимъ условіямъ среды. Въ результатѣ, мѣстный видъ окажется способнымъ жить въ условіяхъ, которыхъ чужой видъ не вынесетъ. Возможно, напримѣръ, предположеніе, что исключительно зооглеическій характеръ роста микробовъ африканскихъ земель могъ явиться какъ результатъ приспособленія къ сухости африканскаго климата. Наоборотъ, ясно безъ дальнѣйшихъ объясненій, что монады гораздо лучше приспособлены къ условіямъ почвы влажной, особенно если она въ то-же время богата органическими веществами.

Что касается до организмовъ, окисляющихъ азотистую кислоту, то я счелъ нужнымъ для сравненія приложить къ этому сообщенію фотографію одного представителя этой группы (фиг. № 16). Фотограмма представляетъ кусочекъ студенистой пленки, которая затягиваетъ дно сосуда въ его культурахъ. Легко различить, что она почти вездѣ состоитъ изъ одного слоя палочекъ[1]).

Если нужно дать всѣмъ этимъ организмамъ названія, я предложилъ-бы

1) На фотограммѣ, приложенной къ моему пятому сообщенію въ *Annales de l'Institut Pasteur*, палочки по винѣ фототипіи вышли гораздо толще, чѣмъ на самомъ дѣлѣ.

Digitized by Google

tion par d'autres voies, elle doit être assez restreinte, car le microbe est très-sensible à la dessication.

J'ai fait quelques expériences sur ce sujet. Supposant que les zooglées doivent mieux supporter la dessication, comme il y en a tant d'exemples parmi les algues, j'ai fait des expériences à part sur des zooglées très-typiques (à membranes épaisses) et sur des monades. D'assez fortes quantités ont été séchées sur des lamelles de mica, conservées pendant dix jours à l'obscurité dans un exsiccateur à chlorure de calcium et jetées, au bout de ce temps, dans la solution ammoniacale ordinaire. Aucune nitrification n'a eu lieu. Mais après une dessiccation de 24 heures à l'air libre, les zooglées ont bien nitrifié, tandis que les monades n'ont pas nitrifié.

La terre complètement sèche et réduite en poussière ne contient pas de microbes nitreux capables de développement. Des terres qui paraissent sèches, mais qui sont encore en grumeaux, n'en contiennent pas beaucoup: il faut souvent ensemencer une assez grande quantité de ces terres, pour provoquer une nitrification, et toujours de plus en plus à mesure que dure l'état de sécheresse.

L'air ne porte jamais de microbes nitreux vivants, à en juger par ce fait que je n'ai jamais observé de nitrification spontanée dans le laboratoire.

Dans cette question de la propagation des microbes nitreux, il faut encore prendre en considération, qu'en habitant des sols et des climats différents, certaines espèces doivent acquérir certaines adaptations aux conditions purement physiques du milieu. Ceci doit avoir pour résultat qu'une espèce locale se maintient bien dans des conditions, que ne supporte pas une espèce importée. Il est permis, par exemple, de supposer que le caractère exclusivement zoogléique des microbes des terres africaines étudiées pourrait bien être une adaptation à la sécheresse du climat. Au contraire, il est clair, sans plus d'explications, que les monades sont beaucoup mieux adaptées aux conditions qui règnent dans un sol humide et surtout en même temps riche en matière organique.

Quant aux organismes oxydant l'acide nitreux, aux *ferments nitriques*, j'ai cru nécessaire, pour mieux permettre la comparaison, de joindre à ce mémoire une photographie d'un représentant de ce groupe (fig. № 16). Le photogramme représente un bout intact de la pellicule gélatineuse, que l'organisme forme au fond des vases. Elle est composée, comme on le voit, presque partout d'une seule couche de bâtonnets [1]).

1) Sur le photogramme joint à mon 5-me mémoire dans les *Ann. de l'Inst. Pasteur* ces bâtonnets sont devenus, par faute de l'autotypie, plus grands et plus épais qu'en nature.

Digitized by Google

сохранить имя *нитробактерій* для всей группы микробовъ, превращающихъ амміакъ въ селитру. Нитрозные организмы Стараго Свѣта могли-бы быть отнесены къ роду *Nitrosomonas* (вмѣсто *Nitromonas*, какъ я предлагалъ раньше), съ двумя видами: *Nitrosomonas europea*, *Nitrosomonas javanensis* (можетъ быть еще нѣсколько другихъ) и съ мѣстными разновидностями. Нитрозный микробъ Новаго Свѣта составилъ-бы родъ *Nitrosococcus*. Организмъ, окисляющій азотистую кислоту, могъ-бы называться *Nitrobacter*.

V.

Перехожу теперь къ культурѣ этихъ микробовъ въ присутствіи органическихъ азотистыхъ веществъ, каковы пептоны, амиды, естественныя органическія жидкости и т. д.

Какъ было сказано выше, данныя гг. Франкландъ относительно культуры нитрознаго микроба въ обыкновенномъ бульонѣ не подтвердились. Ни г. Варингтонъ, ни я не видѣли, чтобы бульонъ дѣлался мутнымъ, тягучимъ и содержалъ тонкіе и длинные бациллы послѣ засѣва чистой культурой нитрознаго микроба. Напротивъ, бульонъ остается прозрачнымъ неопредѣленное время. Нѣтъ никакого сомнѣнія, что эти тонкіе бациллы принадлежали постороннему виду, и что гг. Франкландъ никогда не имѣли совершенно чистыхъ культуръ нитрознаго организма[1]).

Г. Варингтонъ резюмируетъ свои опыты нитрификаціи въ жидкостяхъ, содержащихъ вмѣсто амміачной соли органическія азотистыя вещества, слѣдующимъ образомъ:

Изъ 8 растворовъ аспарагина (0,2 гр. на литръ) 7 дали ясную реакцію азотистой кислоты. Изъ 8 культуръ въ молокѣ (5 к. с. на литръ воды) 5 дали ту-же реакцію. Моча, разведенная 100 объемами воды, въ 6 случаяхъ изъ 8 обнаружила ясную нитрификацію. Изъ 8 культуръ въ растворѣ мочевины (0,5 гр. на литръ) нитрифицировали только 3.

Не вдаваясь въ подробности относительно этихъ культуръ, г. Варингтонъ замѣчаетъ, что нитрификація была вездѣ (особенно-же въ аспарагинѣ и молокѣ) очень медленной и вялой. Количественнаго опредѣленія азотистой кислоты сдѣлано не было. Г. Варингтонъ самъ называетъ свои опыты предварительными, но думаетъ тѣмъ не менѣе, что способность ни-

1) Гг. Франкландъ утверждаютъ, будто имъ удалось вызвать нитрификацію этими бациллами бульонной культуры, но ихъ собственныя данныя доказываютъ, по моему мнѣнію, противное. Кромѣ того, я имѣлъ случай наблюдать всю совокупность фактовъ, описанныхъ гг. Франкландъ, и убѣдиться, что ихъ надо истолковывать иначе, чѣмъ это дѣлаютъ названные авторы. Эти наблюденія могли-бы представлять интересъ для читателя лишь въ случаѣ возникновенія полемики.

Digitized by Google

S'il fallait donner des noms à tous ces organismes, je proposerais de conserver celui de *nitrobactéries* à tout le groupe de microbes, transformant l'ammoniaque en salpêtre. Les ferments nitreux du vieux monde feraient partie du genre *Nitrosomonas* (au lieu de *Nitromonas*, que j'ai proposé avant) avec deux espèces: *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas javanensis* (d'autres encore, peut-être) et des variétés locales. Les microbes nitreux du nouveau monde feraient le genre *Nitrosococcus*. Le ferment nitrique porterait le nom de *Nitrobacter*.

V.

Je passe maintenant à la culture de ces microbes. en présence de matières organiques azotées, telles que péptones, corps amidés, liquides organiques naturels, etc.

Comme il a été dit plus haut, les données de MM. Frankland sur la culture du microbe nitreux dans le bouillon ordinaire ne se sont pas confirmées. Ni M. Warington, ni moi n'avons vu le bouillon devenir trouble, filant et contenir des bacilles longs et minces, à la suite d'ensemencement par une culture pure du microbe nitreux. Au contraire, le bouillon reste clair indéfiniment. Il n'est guère douteux que ces végétations appartiennent à une espèce étrangère, présente comme impureté, et que MM. Frankland n'ont ainsi jamais eu des cultures parfaitement pures du ferment nitreux[1]).

M. Warington résume comme suit ses expériences de nitrification dans des liquides contenant au lieu du sel ammoniacal, de la matière organique azotée.

De 8 solutions d'asparagine (0.2 gr. p. mille) 7 ont donné une réaction distincte d'acide nitreux. De 8 cultures dans le lait (5 c. c. p. un litre d'eau), 5 ont donné la réaction. L'urine étendue de 100 fois son volume d'eau a montré une nitrification distincte dans 6 cas contre 2. De 8 cultures dans une solution d'urée (0,5 gr. p. m.) trois seulement ont nitrifié.

M. Warington, n'entrant pas dans les détails de ces cultures, remarque que la nitrification a été partout (surtout avec l'asparagine et le lait) décidément lente et difficile. L'azote nitreux n'a pas été dosé. W. Warington lui-même qualifie ses expériences de préliminaires, mais il croit

---

1) MM. Frankland prétendent qu'ils ont réussi à provoquer une nitrification par ces bacilles du bouillon, mais leurs propres données démontrent, à mon avis, le contraire de cette assertion. Au reste, j'ai eu l'occasion d'observer tout l'ensemble des faits décrits par MM. Frankland et de m'assurer que leur interprétation est différente de celle que préconisent ces auteurs. Ces observations ne présenteraient d'intérêt pour le lecteur qu'en cas de contreverse.

Digitized by Google

трознаго организма разлагать и нитрифицировать органическія азотистыя вещества отнынѣ доказана[1]).

Я сдѣлалъ только одинъ рядъ опытовъ по этому вопросу, прежде, чѣмъ ознакомился съ послѣдними результатами г. Варингтона.

Я культивировалъ европейскій нитрозный организмъ:

въ 1% растворѣ аспарагина . . . . . 2 культуры.
въ мочѣ, разведенной 4 объемами воды . . . . . 3 »
въ ½% растворѣ мочевины . . . . . 4 »

Питательныя минеральныя соли и слѣдъ углекислой магнезіи были прибавлены, какъ всегда. Посѣвъ былъ сдѣланъ очень обильный — нѣсколько платиновыхъ ушковъ осадка изъ очень богатыхъ культуръ. Сосуды стояли въ термостатѣ при 30° ровно 6 недѣль.

По прошествіи этого времени опытъ долженъ былъ быть прерванъ. Результатъ оказался слѣдующій: растворы аспарагина не давали никакого слѣда реакціи съ подкисленнымъ, содержащимъ іодистый калій, крахмальнымъ клейстеромъ, растворы мочи — тоже. Всѣ культуры въ растворѣ мочевины дали несомнѣнную реакцію: въ одной изъ четырехъ, реакція эта имѣла среднюю интенсивность, въ остальныхъ была скорѣе слабой.

Всѣ жидкости остались безусловно прозрачными. На днѣ сосудовъ хлопьевъ не замѣчалось. Небольшое количество прибавленной магнезіи осталось, повидимому, нетронутымъ. Моча не издавала ни слѣда амміачнаго запаха.

Изъ опытовъ этихъ, ужь конечно, нельзя сдѣлать вывода, что организму этому свойственно энергичное дѣйствіе на органическое азотистое вещество. Даже смыслъ единственнаго положительнаго результата съ мочевиной остался неясенъ, такъ какъ не надо забывать, что тѣло это частью разлагается въ водномъ растворѣ, давая углекислый аммоній. Углекислый аммоній, образовавшійся особенно во время стерилизаціи нагрѣваніемъ и окисленный микробомъ, могъ дать слѣдъ азотистой кислоты, найденный черезъ 6 недѣль въ жидкости. Новые опыты необходимы для того, чтобы рѣшить, разлагаетъ-ли и нитрифицируетъ-ли микробъ мочевину, какъ таковую, или-же только продуктъ ея самопроизвольнаго разложенія. Но даже допуская первую возможность, удивляешься медленности дѣйствія микроба на тѣло, столь близкое по составу къ углекислому аммонію — наилучшему для микроба питательному веществу[2]). Это не говоритъ въ пользу способ-

1) *l. c.*, стр. 507.

2) Не надо забывать, что хорошо веденная культура можетъ дать въ 6 недѣль болѣе грамма азотистой кислоты, а въ присутствіи мочевины, какъ азотистаго вещества, получались лишь слѣды этой кислоты.

Digitized by Google

néanmoins que la faculté du ferment nitreux d'attaquer et de nitrifier la matière organique azotée est désormais prouvée [1]).

Moi même, je n'ai fait qu'une seule série d'expériences sur ce même sujet, et cela avant d'avoir connaissance des résultats récents de M. Warington. J'ai cultivé le ferment nitreux européen:

dans une solution d'asparagine à 1 p. cent . . . . . 2 cultures.
dans l'urine étendue de 4 fois son volume d'eau. . . 3 »
dans une solution d'urée à $^1/_2$ p. cent . . . . . 4 »

Les sels minéraux nutritifs et une trace de carbonate de magnésie étaient ajoutés comme toujours. On a ensemencé, avec plusieurs anses de platine, du dépôt de très-riches cultures. On a tenu les vases à l'étuve à 30° pendant juste 6 semaines.

Au bout de ce temps on a du interrompre l'expérience, et on a noté le résultat suivant: les solutions d'asparagine ne donnaient aucune trace de réaction avec l'amidon ioduré et acidulé, l'urine — non plus. Toutes les cultures dans la solution d'urée donnaient une réaction non douteuse: dans une des quatre, elle avait une intensité moyenne, dans les trois autres, elle était plutôt faible.

Tous les liquides sont restés absolument clairs. On ne remarquait pas de flocons au fond des vases. Le peu de magnésie ajoutée est restée en apparence intacte. L'urine n'avait aucune trace d'odeur ammoniacale.

Si on voudrait tirer une conclusion de ces expériences, ce ne serait pas sûrement celle d'une action bien marquée du ferment sur la matière organique azotée. Le seul résultat positif avec l'urée n'est pas probant, car il ne faut pas oublier que ce corps se décompose en partie, si on le fait bouillir en solution aqueuse, en donnant du carbonate d'ammoniaque. Le carbonate d'ammoniaque, formé surtout pendant la stérilisation à chaud, et oxydé par le microbe, a pu fournir cette trace d'acide nitreux que contenait le liquide après six semaines. Des expériences nouvelles sont nécessaires pour décider si c'est vraiment l'urée elle-même qui est attaquée et nitrifiée par le microbe, et non le produit de sa décomposition spontanée. Mais, même en admettant la première éventualité, on s'étonne de la lenteur de l'action du microbe sur ce corps qui se raproche tant du carbonate d'ammoniaque — corps de prédilection de ces microbes — par sa composition [2]). Ceci ne parle pas en fa-

1) *l. c.*, p. 507.

2) Il ne faut pas oublier qu'une culture bien menée peut donner en 6 semaines plus d'un gramme d'acide nitreux, et avec l'urée comme corps azoté, il n'y avait que des traces de cet acide.

Digitized by Google

ности нитрифицирующихъ микробовъ разлагать болѣе прочныя и болѣе сложныя азотистыя вещества.

Во всякомъ случаѣ, уже теперь можно высказать мнѣніе, что нитрифицирующіе микробы не играютъ никакой роли въ разложеніи органическаго вещества въ природѣ. Это разложеніе имѣетъ безъ всякаго сравненія болѣе энергичный характеръ, и наши микробы несомнѣнно не выдерживаютъ конкурренціи съ возстановляющими микробами, которые именно производятъ разрушеніе азотистаго органическаго вещества въ природѣ.

Замѣчу, что разница между результатами опытовъ г. Варингтона и моими можетъ объясняться различной концентраціей употребленныхъ жидкостей. Г. Варингтонъ употреблялъ для культуръ жидкости, очень разведенныя водою; нѣтъ ничего невозможнаго, что азотистыя вещества въ этихъ условіяхъ болѣе легко поддаются нитрификаціи. Но возможно также и то, что амидныя тѣла въ очень слабомъ растворѣ легче разлагаются отъ дѣйствія жара и воды (въ особенности въ присутствіи углекислаго основанія), давая слѣды углекислаго аммонія, на котораго и обращается дѣйствіе нитрознаго микроба.

Въ заключеніе, я вернусь въ послѣдній разъ къ вопросу о лучшемъ способѣ изолированія этихъ организмовъ — одной изъ самыхъ трудныхъ задачъ въ бактеріологіи. Хотя при употребленіи студенистаго кремнезема операція эта сдѣлалась довольно надежной, она все таки не достигла почти механической простоты способа изолированія посредствомъ желатиновыхъ пластинокъ. Не только приготовленіе этой студени требуетъ большой тщательности, но надо еще знать морфологію организма, чтобы хорошо выбрать посѣвъ [1]). Дѣло въ томъ, что для посѣва совершенно необходимо брать монады, а не зооглеи, такъ какъ плотныя массы этихъ послѣднихъ рѣдко свободны отъ постороннихъ зародышей, приставшихъ къ ихъ студенистой оболочкѣ (быть можетъ даже отчасти заключенныхъ въ ней); да и самый принципъ методы изолированія требуетъ, чтобы отдѣльныя колоніи происходили отъ одной клѣточки, а зооглеи состоятъ изъ тысячъ. Въ виду невозможности разъединить зооглеи какимъ-бы то ни было искуственнымъ способомъ [2]), ясно, что приходится ждать самопроизвольнаго распаденія этихъ тѣлъ съ образованіемъ подвижныхъ монадъ. Надежнымъ указаніемъ этого служитъ опалесценція или помутнѣніе жидкости.

Есть еще причина, по которой только посѣвъ монадъ ведетъ къ цѣли,

---

1) Въ замѣткѣ, напечатанной мною о приготовленіи твердой среды, мнѣ невозможно было остановиться на этой сторонѣ дѣла, не давая полной морфологіи организма.

2) Это не удается даже при употребленіи растворовъ щелочей и кислотъ.

Digitized by Google

veur de la faculté des microbes nitrificateurs de décomposer des corps azotés plus stables et plus complexes.

En tout cas, on peut dès maintenant énoncer l'opinion que les microbes nitrificateurs ne sont pour rien dans la decomposition de la matière organique dans la nature. Cette décomposition a une allure tout autrement énergique, et il n'est pas douteux que nos microbes ne supportent pas la concurrence avec les microbes réducteurs qui président à la destruction de la matière organique azotée.

Je ferai remarquer que la différence des résultats entre les expériences de M. Warington et les miennes est peut-être due à la différente concentration des liquides employés. M. Warington s'est servi de liquides très-étendus d'eau, et il n'est pas impossible que les substances azotées deviennent, dans ces conditions, plus facilement nitrifiables. Mais, il n'est pas impossible non plus, que les corps amidés en solution très-faible soient plus facilement décomposés par l'action de la chaleur et de l'eau, surtout en présence d'une base carbonatée, en donnant des traces de carbonate d'ammoniaque, sur lequel se porte alors l'action des microbes nitreux.

Pour terminer, je reviendrai, encore une fois, à la question du meilleur procédé pour isoler ces organismes — une tâche des plus malaisées dans la bactériologie. C'est qu'avec l'emploi de la silice gélatineuse cette opération, devenue assez sûre, n'a pas néanmoins acquis la simplicité quasi mécanique du procédé des plaques de gélatine. Non-seulement la préparation du terrain de culture exige des soins, mais il faut encore connaître la morphologie de l'organisme, pour pouvoir bien choisir la semence[1]). Il est absolument indispensable de se servir des monades comme semence et non des zooglées: leurs masses compactes sont rarement libres de germes étrangers qui adhèrent à leur enveloppe gélatineuse et qui y sont peut-être en partie renfermés. Et puis, le principe même de la méthode exige que les colonies isolées proviennent d'une seule cellule, et les zooglées sont composées de milliers. Comme il est impossible de parvenir à désagréger des zooglées par des moyens artificiels quelconques[2]), il est clair qu'il faut attendre la désagrégation spontanée de ces corps avec formation de monades mobiles. L'opalescence ou le trouble du liquide de culture en est l'indice très-sûr.

Il y a encore une raison qui fait que l'ensemencement de monades seuls

1) Dans la note que j'ai publiée sur la préparation du milieu solide il m'était impossible d'insister sur ce sujet, sans donner toute la morphologie de l'organisme.

2) On n'y parvient même pas en faisant agir des solutions d'alcalis et d'acides.

Digitized by Google

а именно: только при этомъ условіи можно надѣяться получить на студни «свѣтлыя», а не «темныя» колоніи, которыя часто обусловливаютъ полный неуспѣхъ операціи укола. Послѣднюю операцію лучше всего дѣлать стеклянной ниткой, сдѣланной изъ свѣжевытянутой стеклянной трубочки, кончикъ которой не толще волоса. Я употребляю при этомъ препаровальную призму Нашэ (prisme redresseur) и маленькій препаровальный столикъ, устроенный такъ, чтобы служить опорой для иглы и для руки, которая ее держитъ. При помощи этихъ приспособленій я дѣлаю уколъ легко въ самую маленькую колонію, видимую при увеличеніи въ 100 разъ, и затѣмъ ударомъ отламываю кончикъ иглы въ сосудѣ, который надо засѣять. Въ этихъ условіяхъ посѣвъ такъ минималенъ, какъ только можно желать — всего нѣсколько клѣточекъ, — но всегда можно быть увѣреннымъ, что онъ дѣйствительно сдѣланъ.

О приготовленіи среды приходится сказать только нѣсколько словъ. Самое главное здѣсь — хорошее качество раствора кремнезема и способъ концентрировать его. Смѣсь силиката (100 к. с., плотность 1,06) и соляной кислоты (тотъ-же объемъ, уд. в. 1,1) діализируется до полнаго исчезновенія реакціи хлора. Для этого достаточно двухъ дней въ текучей водѣ и одного дня въ водѣ дистиллированной, при употребленіи трубки изъ пергаментной бумаги. Для употребленія, 100 к. с. полученной жидкости концентрируютъ до 20 к. с. кипяченіемъ въ колбочкѣ. Тотчасъ по охлажденіи къ ней прибавляютъ 1 к. с. раствора сѣрно-кислаго аммонія и другихъ нужныхъ солей и 1 к. с. раствора соды. Количество этихъ солей должно быть расчитано такимъ образомъ, чтобы въ средѣ количество сѣрно-кислаго аммонія не превышало 2—2,5 на тысячу, а количество соды — 4 на тысячу. Затѣмъ въ ту-же колбочку прибавляютъ каплю мутной жидкости культуры, взбалтываютъ и льютъ смѣсь сколько нужно прямо въ стеклянныя коробочки Петри. Хорошо прибавить въ колбочку до разливанія отъ 3 до 4 капель концентрированнаго на холоду раствора поваренной соли, или-же — еще лучше — его прибавляютъ послѣ распредѣленія жидкости по каплѣ на каждую чашечку, размѣшивая платиновой лопаточкой. Эта соль очень способствуетъ желатинированію.

Вовсе не нужно, чтобы смѣсь желатинировала немедленно. Я не только не нашелъ никакого неудобства въ томъ, чтобы желатинированіе происходило черезъ 2, 3 и болѣе часовъ, но я нашелъ даже, что качество студня хорошо только тогда, когда застываніе идетъ медленно. Когда коагулированіе идетъ быстро, студень имѣетъ стремленіе отдавать воду; поверхность ея всегда остается нѣкоторое время влажной или даже покрытой слоемъ воды, послѣ чего студень становится очень твердой. Жидкое со-

Digitized by Google

permet d'atteindre le but proposé. C'est qu'alors seulement on peut espérer d'avoir, sur la gelée, des «colonies claires» et non les «colonies sombres» qui rendent souvent impossible la réussuite de la piqûre. Quant à cette opération, on la fait le mieux avec un fil de verre, fait d'un tube de verre fraîchement étiré, dont le bout est aussi fin qu'un cheveu. Je me sers pendant l'opération du prisme redresseur de Nachet, et d'une petite table de préparation, construite de manière à servir de support pour la main droite et l'aiguille qu'elle mène. Tout ceci aidant, je pique avec sureté la plus petite colonie à un grossissement de 100, et je casse le bout de l'aiguille de verre dans le vase à ensemencer. La semence est alors aussi minime qu'on peut le désirer — quelques cellules — mais on peut être toujours certain qu'elle a eu réellement lieu.

Il n'y a que quelques mots à ajouter sur la préparation du milieu. Le principal est dans la bonne qualité de la solution silicique et dans la manière de la concentrer. Le mélange de silicate (100 c. c., densité 1,06) et d'acide chlorhydrique (même volume, densité 1,1) doit être dialysé jusqu'à disparition de la réaction du chlore. Deux jours dans l'eau courante et un jour dans l'eau distillée suffisent, si on se sert d'un tube de papier à dialyse. Pour s'en servir, on concentre 100 c. c. du liquide jusqu'à 20 c. c. en le faisant bouillir dans un ballon. Aussitôt refroidi, on y ajoute 1 c. c. de la solution de sulfate d'ammoniaque et d'autres sels nécessaires et 1 c. c. de la solution de carbonate de soude. La quantité de ces sels doit être calculée de manière que le sulfate d'ammoniaque ne dépasse dans le milieu 2 à 2,5 p. mille, le carbonate de soude 4 p. mille. On ajoute ensuite dans le même ballon une goutte du liquide trouble de culture, on agite, et on verse le mélange, autant que nécessaire, directement dans les boîtes Petri. Il est bon d'ajouter encore dans le ballon, avant de verser, 3 à 4 gouttes d'une solution concentrée à froid de sel marin; ou mieux, on l'ajoute après la distribution du liquide, à raison d'une goutte dans chaque coupe, et on mélange avec une spatule de platine. Ce sel favorise beaucoup la gélification.

Il n'est pas du tout nécessaire que le mélange devienne solide immédiatement. Non-seulement je n'ai trouvé d'inconvénient que la gélification se fasse attendre 2—3 heures et même plus, mais j'ai trouvé que la qualité de la gelée n'est bonne, que quand la prise de la solution est lente. Quand la coagulation est rapide, la gelée a une tendance à rendre l'eau; sa surface est pendant quelque temps toujours humide, ou même couverte d'une couche d'eau, après quoi la gelée devient très-dure. L'état liquide, prolongé jusqu'à dix heures, ne nuit pas du tout à la répartition égale des colonies; au con-

Digitized by Google

стояніе, даже если оно длится до 10 часовъ, вовсе не вредитъ равномѣрному распредѣленію колоній; напротивъ, распредѣленіе ихъ въ средѣ не оставляетъ желать ничего лучшаго; на поверхности ихъ бываетъ особенно много, что́ очень удобно. Это объясняется вѣроятно тѣмъ, что подвижныя клѣточки послѣ посѣва направились въ поверхностные слои, гдѣ и двигались, пока не застигло ихъ желатинированіе.

Если придерживаться этихъ пріемовъ, получаются культуры не приблизительно только, но безусловно чистыя, и лучшій извѣстный мнѣ способъ убѣдиться въ этомъ слѣдующій: платиновое ушко осадка нитрифицированной культуры сѣется въ обыкновенный бульонъ, который держатъ затѣмъ въ теченіе 10 дней при 30°. По прошествіи этого времени въ бульонѣ не должно быть никакой мути. Чистоту культуры нитрифицирующихъ микробовъ можно считать тогда доказанной.

Объясненіе фигуръ.

Фотографіи были исполнены, подъ моимъ непосредственнымъ наблюденіемъ, г. Отто Мюллеръ, микрофотографомъ въ Цюрихѣ (Gerechtigkeitsgasse 22), съ большимъ стараніемъ и искусствомъ.

Таблица I.

Фиг. 1. Увелич. 1000 X. *Микробъ процесса образованія азотистой кислоты изъ Цюрихской почвы.* Осадокъ только что нитрифицированной культуры въ минеральномъ растворѣ. Окрашиваніе фуксиномъ на анилиновой водѣ.

Фиг. 2. Увелич. 1000 X. *Тотъ-же организмъ* въ подвижномъ состояніи, снабженный рѣсничкой. Окрашиваніе по способу Лёфлера.

Фиг. 3. Увелич. 1000 X. *Микробъ того-же процесса изъ Женневильерской земли*, взятый изъ культуры на кремнеземѣ. Окраска по методѣ Лёфлера.

Фиг. 4. Увелич. 1000 X. *Микробъ того-же процесса изъ Казанской земли.* Культура въ минеральномъ растворѣ. Окраска фуксиномъ на анилиновой водѣ.

Таблица II.

Фиг. 5. Увелич. 500 X. *Цюрихскій нитрозный микробъ.* «Свѣтлыя колоніи» на кремнеземѣ въ живомъ и неокрашенномъ видѣ.

Фиг. 6. Увелич. 1000 X. *Тотъ-же микробъ.* Культура въ жидкости. Зооглейная форма; снята въ слабомъ растворѣ іода.

Фиг. 7. Увелич. 125 X. *Тотъ-же микробъ.* Культура въ жидкости, содержащая исключительно форму Zoogloea. Слабый растворъ іода.

Фиг. 8. Увелич. 1000 X. *Тотъ-же микробъ.* Форма Zoogloea. Слабый растворъ іода.

Таблица III.

Фиг. 9. Увелич. 1000 X. *Нитрозный микробъ съ остр. Ява.* Подвижныя группы. Окраска по способу Лёфлера.

Фиг. 10. Увелич. 1000 X. *Нитрозный микробъ изъ Явы.* Подвижныя клѣтки и группы.

Digitized by Google

traire, leur distribution dans le milieu ne laisse rien à désirer, et il y en a alors beaucoup à la surface, ce qui est très favorable. Cela s'explique, probablement, par ce que les cellules mobiles ont continué à se mouvoir dans le milieu et ont recherché les couches supérieures, où la solidification les a fixées.

En se conformant à ces indications, on réussit à avoir des cultures, non à peu près, mais absolument pures, et le meilleur moyen que je connaisse de s'en assurer, est celui-ci: introduire une anse de platine pleine du dépôt d'une culture nitrifiée dans le bouillon ordinaire, et le tenir à 30° pendant 10 jours. Au bout de ce temps, le bouillon ne doit pas montrer le moindre trouble. La pureté de la culture des microbes nitrificateurs est alors prouvée.

Explication des figures.

Les photographies ont été exécutées d'après mes indications par M. Otto Müller, microphotographe à Zurich (Gerechtigkeitsgasse 22) qui a mis beaucoup de soins et d'habileté dans ce travail.

Planche I.

Fig. 1. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Dépôt d'une culture en solution minérale récemment nitrifiée. Coloration avec la fuchsine à l'eau anilinée.

Fig. 2. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Zurich* à l'état mobile. Coloration d'après Loeffler.

Fig. 3. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Gennevilliers* pris d'une culture sur silice. Coloration d'après Loeffler.

Fig. 4. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Kazan.* Culture en solution minérale. Coloration avec la fuchsine à l'eau anilinée.

Planche II.

Fig. 5. Gross. 500 X. *Microbe nitreux de Zurich.* «Colonies claires» sur silice à l'état vivant et incolore.

Fig. 6. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Culture en milieu liquide. Végétations zoogléiques, photographiées dans une faible solution d'iode.

Fig. 7. Gross. 125 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Culture à Zooglées en milieu liquide. Faible solution d'iode.

Fig. 8. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Végétations zoogléiques. Faible solution d'iode.

Planche III.

Fig. 9. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Java.* Groupes mobiles. Coloration d'après Loeffler.

Fig. 10. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Java.* Cellules et groupe mobiles.

Digitized by Google

Фиг. 11. Увелич. 1000 X. *Нитрозный микробъ изъ Явы.* Зооглеи въ состояніи распаденія. Нечистая культура, засѣянная землей.

Фиг. 12. Увелич. 1000 X. *Нитрозный микробъ изъ Явы.* Осадокъ изъ нитрифицированной жидкости въ періодъ возобновленія роста. Окраска малахитомъ и генціаной.

Таблица IV.

Фиг. 13. Увелич. 100 X. *Цюрихскій микробъ.* Культура на кремневой студени. «Темныя колоніи» внутри студени. Постороннія бактеріи разсѣяны на поверхности, но колоній не образуютъ.

Фиг. 14. Увелич. 100 X. *Цюрихскій микробъ.* Культура на студени. «Темныя колоніи» на поверхности.

Фиг. 15. Увелич. 1000 X. *Цюрихскій микробъ.* Зооглеи съ массивной студенистой оболочкой. Окраска фуксиномъ и генціаной.

Фиг. 16. Увелич. 1000 X. *Микробъ процесса образованія азотной кислоты изъ Квито.* Культура въ растворѣ нитрита. Кусочекъ пленочки, одѣвающей дно сосуда. Окраска малахитомъ, генціаной и фуксиномъ.

Digitized by Google

Fig. 11. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Java.* Zooglées en voie de désagrégation. Coloration avec la fuchsine. Culture impure, ensemencée par de la terre.

Fig. 12. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Java.* Dépôt d'un liquide nitrifié, au début de la reprise de la végétation. Coloration avec le vert malachite et la gentiane.

Planche IV.

Fig. 13. Gross. 100 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Culture sur silice. «Colonies sombres» dans l'intérieur de la gelée. Des microbes étrangers sont disséminés sur la surface, mais ne forment pas de colonies.

Fig. 14. Gross. 100 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Culture sur silice. «Colonies sombres» sur la surface de la gelée.

Fig. 15. Gross. 1000 X. *Microbe nitreux de Zurich.* Zooglées à enveloppes gélatineuses épaisses. Coloration avec la fuchsine et la gentiane.

Fig. 16. Gross. 1000 X. *Microbe nitrique de Quito.* Culture en solution de nitrite. Bout de membrane habillant le fond d'une vase de culture. Coloration par le vert de malachite, la gentiane et la fuchsine.

Digitized by Google

О свойствахъ туберкулина, полученнаго изъ туберкулёзныхъ бациллъ, выращенныхъ на картофелѣ.

Г. Х. Гельмана[1]).

(Съ таблицей V.)

Въ литературѣ до сихъ поръ, насколько я знаю, встрѣчается очень мало указаній относительно культуры туберкулёзныхъ бациллъ на картофелѣ. Только г. Павловскій[2]) описываетъ одинъ способъ культуры этихъ бациллъ на картофелѣ въ запаянныхъ пробиркахъ. Культуры расли довольно хорошо, когда для посѣва были взяты или чистыя культуры на глицеринъ-агарѣ, или костный мозгъ кроликовъ, павшихъ вслѣдствіе впрыскиванія имъ чистыхъ культуръ. Но когда Павловскій употреблялъ для посѣва человѣческій туберкулёзъ, т. е. бралъ матеріалъ прививокъ отъ кроликовъ, зараженныхъ мокротою туберкулёзныхъ людей, его попытки дали отрицательные результаты.

Нѣсколько лѣтъ тому назадъ я началъ культивировать бациллъ человѣческаго туберкулёза въ обыкновенныхъ двойныхъ чашечкахъ для посѣвовъ около 5 см. въ поперечникѣ и 3 см. вышины.

Культуры устраивались слѣдующимъ образомъ: сырые клубни, чисто вымытые, клались на нѣкоторое время въ известковую воду; изъ известковой воды ихъ снова перекладывали въ чистую воду, въ которой варили до полусвареннаго состоянія. Послѣ этого клубни перерѣзывались стерилизованнымъ ножомъ пополамъ и каждая половина помѣщалась въ особую ча-

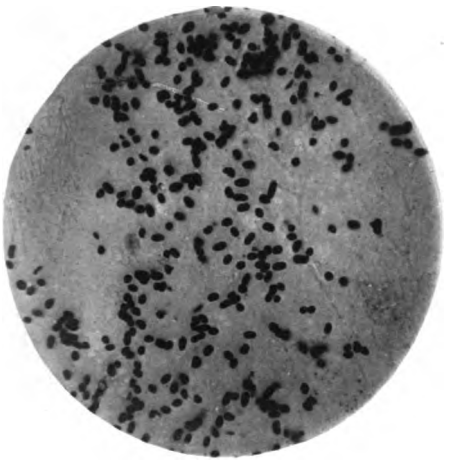
---

1) 26-го февраля текущаго года скончался авторъ этого труда. Въ его лицѣ Институтъ Экспериментальной Медицины теряетъ одного изъ своихъ членовъ, съ именемъ котораго связано самое возникновеніе Института. Разставаясь съ нашимъ товарищемъ, мы посвящаемъ его памяти нѣсколько строкъ въ концѣ этой книги.

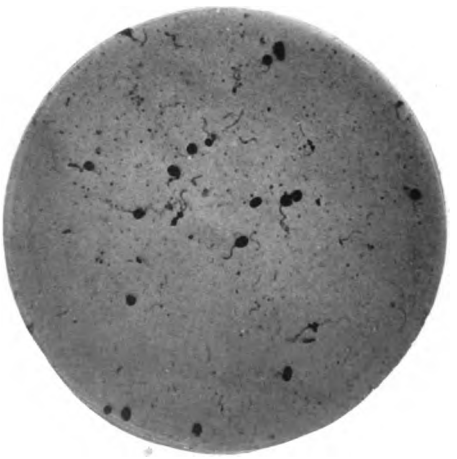
2) Pawlowsky. Culture des bacilles de la tuberculose sur la pomme de terre. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1889. Стр. 303.

Digitized by Google

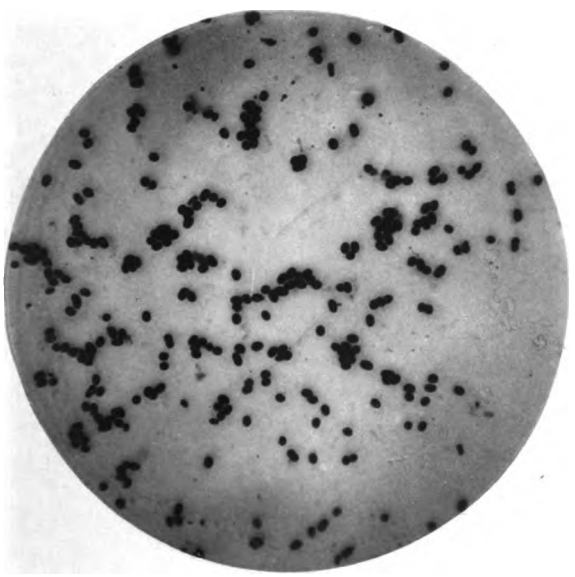
1.



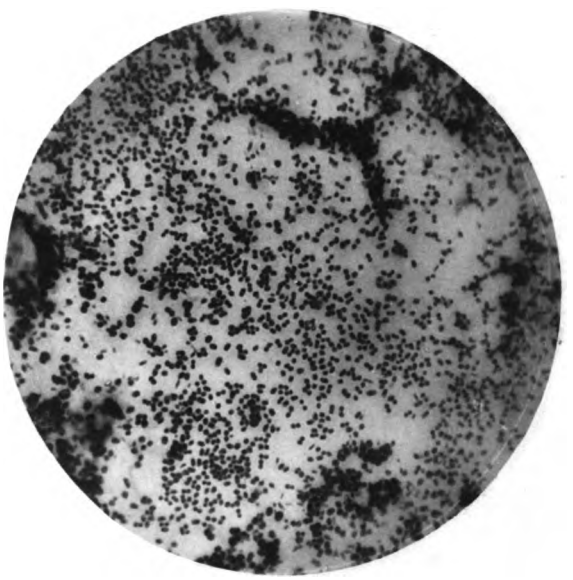
2.



3.



4.



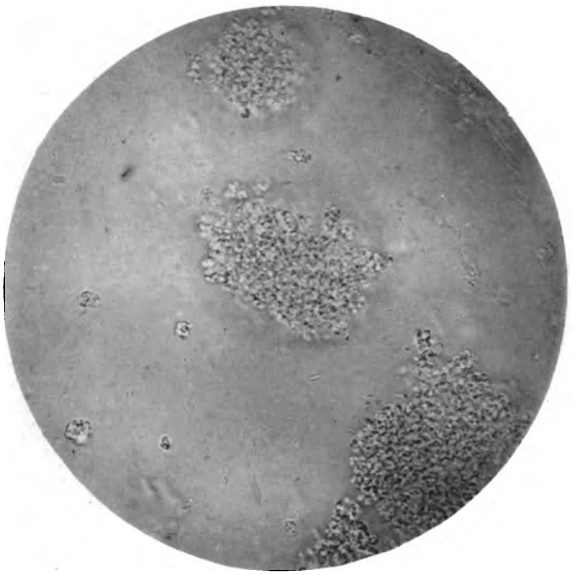
Müller phot. Zürich.

Crayondruck, J. B. Obernetter, München.

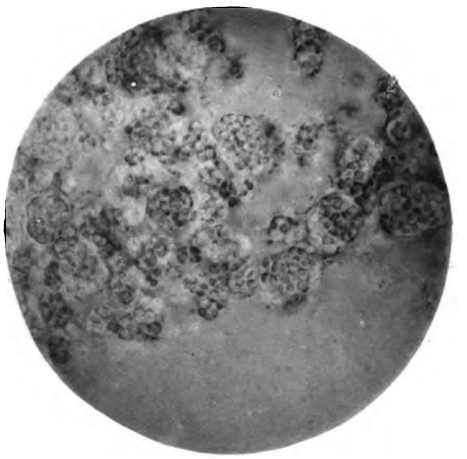
Digitized by Google

Digitized by Google

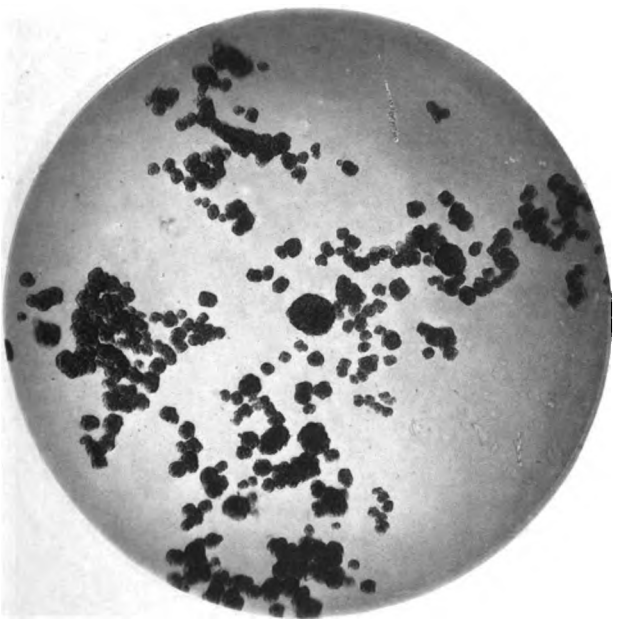
5.



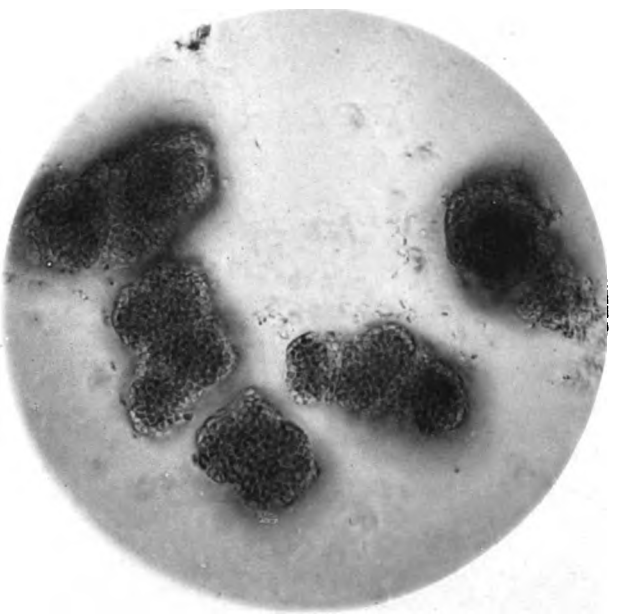
6.



7.



8.



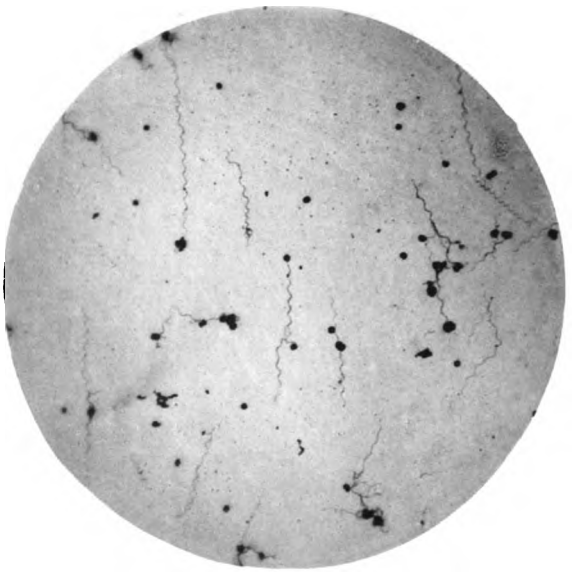
Müller phot. Zürich. Crayondruck, J. B. Obernetter, München.

Digitized by Google

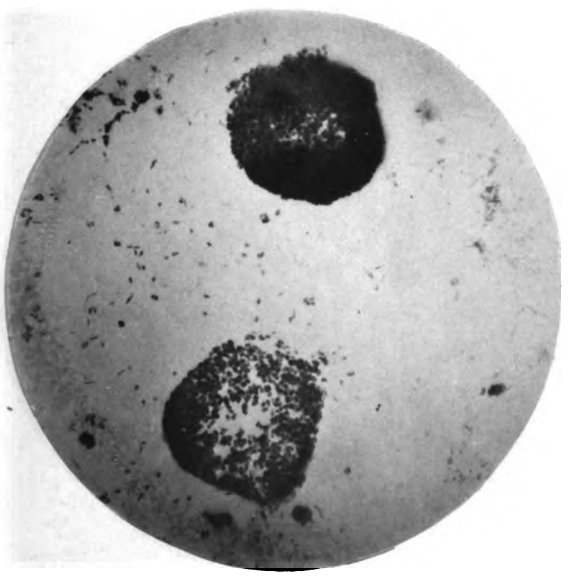
Digitized by Google

9.

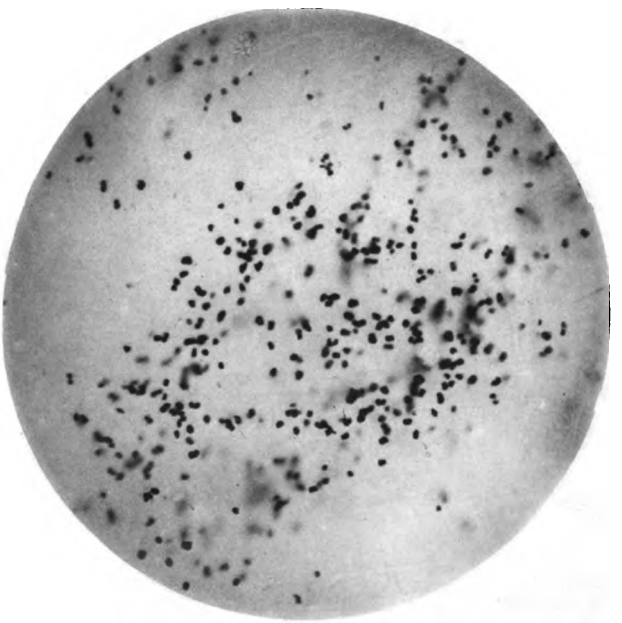
10.



11.



12.

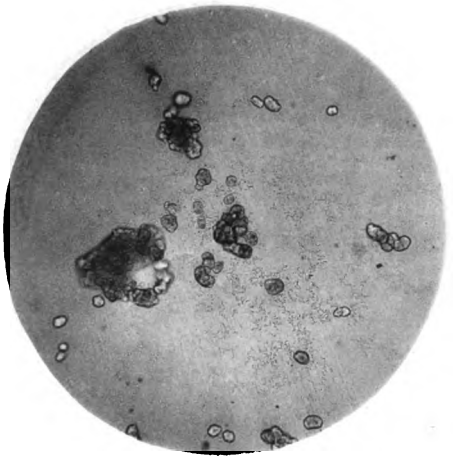


o Müller phot. Zürich. Crayondruck, J. B. Obernetter, München.

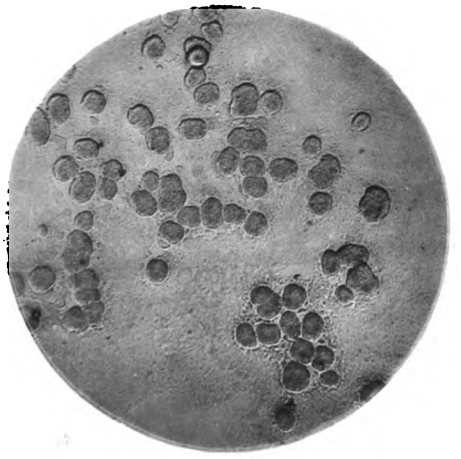
Digitized by Google

Digitized by Google

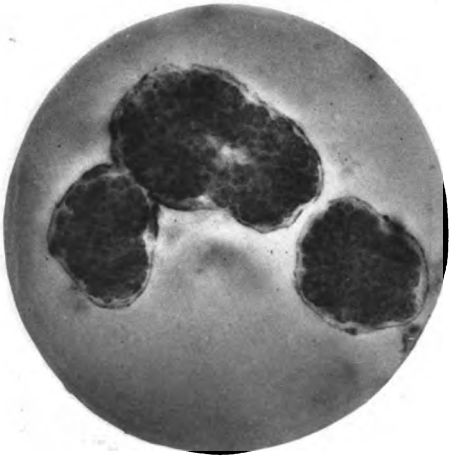
13.



14.



15.



16.

o Müller phot. Zürich. Crayondruck, J. B. Obernetter, München.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google